Interação fármaco-recetor

Princípios físico-químicos da ação farmacológica

EM QUÍMICA

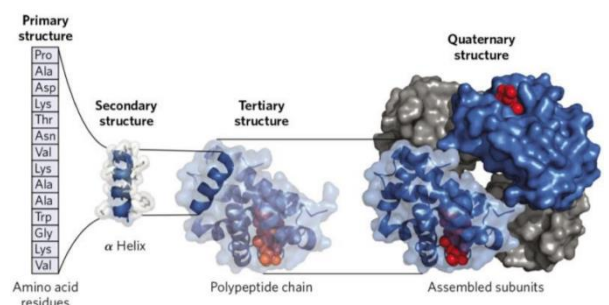
Forças intramoleculares ➔ São forças que se exercem entre os átomos de uma molécula, estabilizando-a individualmente. As ligações químicas são exemplo de forças intramoleculares fortes. Ex: Energia da ligação O-H na molécula de água (930 kJ/mol)

Force	Model	Basis of Attraction	Energy (kJ/mol)	Example
Bonding				
Ionic		Cation–anion	400–4000	NaCl
Covalent		Nuclei–shared e^- pair	150–1100	H—H
Metallic		Cations–delocalized electrons	75–1000	Fe
Nonbonding (Intermolecular)				
Ion-dipole		Ion charge–dipole charge	40–600	$Na^+ \cdots OH_2$
H bond	$\delta-$ $\delta+$ $\delta-$ —A—H·······:B—	Polar bond to H–dipole charge (high EN of N, O, F)	10–40	:Ö(H)—H···:Ö(H)—H
Dipole-dipole		Dipole charges	5–25	I—Cl···I—Cl
Ion–induced dipole		Ion charge–polarizable e^- cloud	3–15	$Fe^{2+} \cdots O_2$
Dipole–induced dipole		Dipole charge–polarizable e^- cloud	2–10	H—Cl···Cl—Cl
Dispersion (London)		Polarizable e^- clouds	0.05–40	F—F···F—F

Forças intermoleculares ➔ São forças atractivas ou repulsivas que se exercem entre os átomos de moléculas diferentes. As forças intermoleculares são **mais fracas** que as forças intramoleculares, mas são extremamente importantes, pois são responsáveis pelos estados condensados da matéria (estados líquido e sólido). Ex: Energia de vaporização das moléculas de água (41 kJ/mol)

A energia de ligação de uma ligação covalente e de uma ligação iónica sobrepõe-se.

EM BIOQUÍMICA

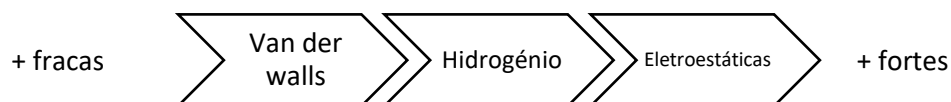
- As estruturas secundárias são estabilizadas por pontes de hidrogénio
- As estruturas secundárias enrolam-se formando estruturas terciárias
- As estruturas terciárias estabilizam-se por ligações dipolo-dipolo / ligações dissulfeto

Estas forças não são consideradas apenas intermoleculas ➔ Assim, em bioquímica dentro de uma molécula há mais ligações covalentes (intra em química) e dipolo-dipolo (inter em química)

⇨ Passa a haver ligações fortes (covalentes) e fracas (dipolo-dipolo)

Ligação fármaco-recetor:

- Dipolo-dipolo
- Covalentes

Logo, mais uma vez, não há ligações intra e inter mas ligações fortes e fracas.
FRACAS:

- **Interações electroestáticas:** dentro das fracas são as mais fortes 1º
- **Pontes de hidrogénio:** mais fracas que electroestáticas 2º
- **Interações Van der Walls:** mais fracas 3º

Se as cargas estiverem a uma distância ótima a sua força naquele momento é maxima

Os grupos funcionais, em bioquímica, não têm a mesma liberdade que em química, porque estão ligados a uma proteína

O fármaco (parte negativa) só consegue juntar-se à carga positiva se esta estiver ligada à proteína numa parte de **estrutura secundária flexível** (ou seja, não se a carga positiva da proteína estiver a ser atraída por um ligação mais forte como pontes de hidrogénio, o fármaco não se vai aproximar)

OU SEJA

Acontece essencialmente quando o fármaco se tenta ligar aos loops

- Se o fármaco estiver a tentar ligar-se a uma carga de uma hélice alfa ou folha beta não se vai conseguir ligar, pois estas são estabilizadas por pontes de hidrogénio
  - Dado que as hélices alfa e as folhas beta são muito pouco flexíveis

O objetivo é que na presença de substrato (substância criada pela proteína para se ligar e formar ligações), ao colocar o fármaco (exógena) estes compitam para que o fármaco se consiga ligar.

Quanto mais forte for a interação, mais baixa é a energia do complexo

Se o fármaco não se ligar, é necessário aumentar a dose do fármaco (a dose de fármaco ingerida deve ser a menor quantidade necessária possível para evitar possíveis efeitos secundários).

O ideal é o fármaco interagir sempre por ligações fortes?

- **SIM**. O objetivo é ser sempre o mais forte possível para ganhar quando estiver em competição com a substância endógena
- **Mas** não queremos ligações covalentes entre o fármaco e a proteína pois, caso contrário, o fármaco nunca iria sair de lá → iria aumentar o problema, portento interagimos com as ligações mais fortes possíveis dentro das fracas

Ligações covalentes (muito fortes) entre fármaco e recetor → **ligações irreversíveis**

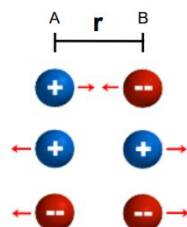
Ligações fracas entre fármaco e recetor → **ligações reversíveis**

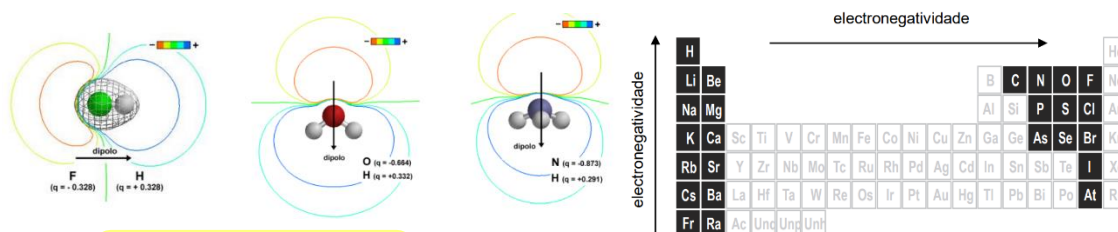
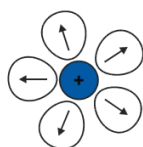
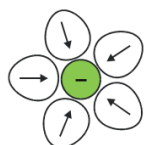
Portanto devemos ter ligações fracas entre fármacos e recetores, mas mais fortes possíveis

QUEREMOS SEMPRE LIGAÇÕES REVERSÍVEIS

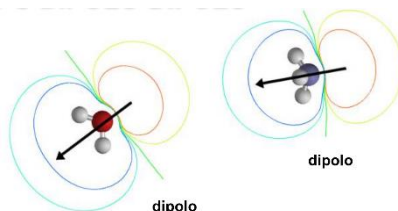
NOTA: só queremos ligações covalentes quando queremos aniquilar os microrganismos (por exemplo, antibióticos para aniquilar bactérias).

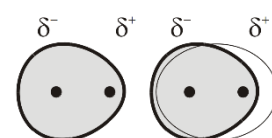
Interações do tipo ião-ião

- **Forças eletrostáticas**
    - Segundo a lei de Coulomb, a energia potencial de interação entre duas partículas com cargas elétricas (qA e qB) e separadas por uma distância r, é dada pela expressão:

Interações do tipo ião-dipolo

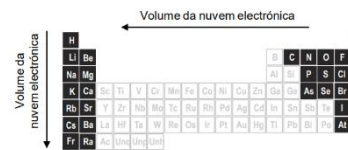
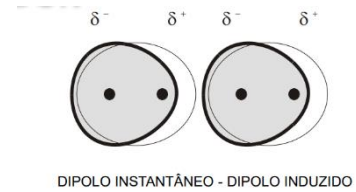
- **Entre um ião e uma molécula polar**
    - O dipolo indica a direção e sentido em que uma carga unitária positiva se deslocaria no campo eletrostático gerado por esse dipolo.

- **Solvatação/Hidratação**
    - Um ião num solvente polar é solvatado como resultado da sua interação com os dipolos das moléculas de solvente. No caso do solvente ser a água, o ião diz-se hidratado.

    - Quando um catião é colocado em solução aquosa, as moléculas de água tendem a agregar-se à sua volta, com os seus dipolos apontando para fora

    - Quando um anião é colocado em solução aquosa, as moléculas de água tendem a agregar-se à sua volta, com os seus dipolos apontando para o ião

Interação do tipo dipolo-dipolo

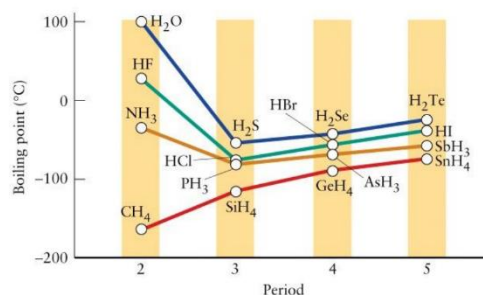
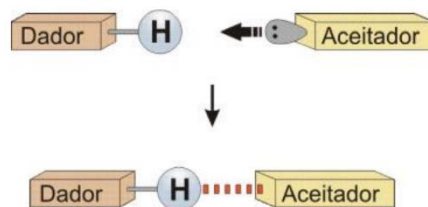
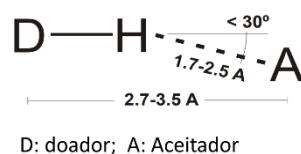
- **Entre moléculas polares**
    - As moléculas polares tendem a orientar-se de forma a manter os seus dipolos alinhados. Apesar de estas moléculas serem globalmente neutras, o lado negativo de uma molécula é atraído pelo lado positivo de outra.

Interação do tipo dipolo-dipolo induzido

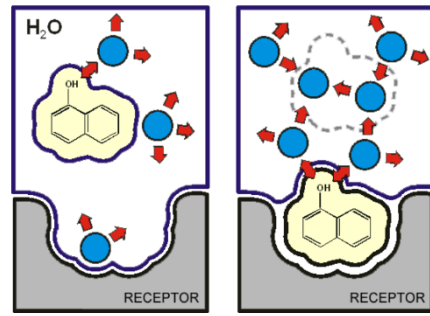
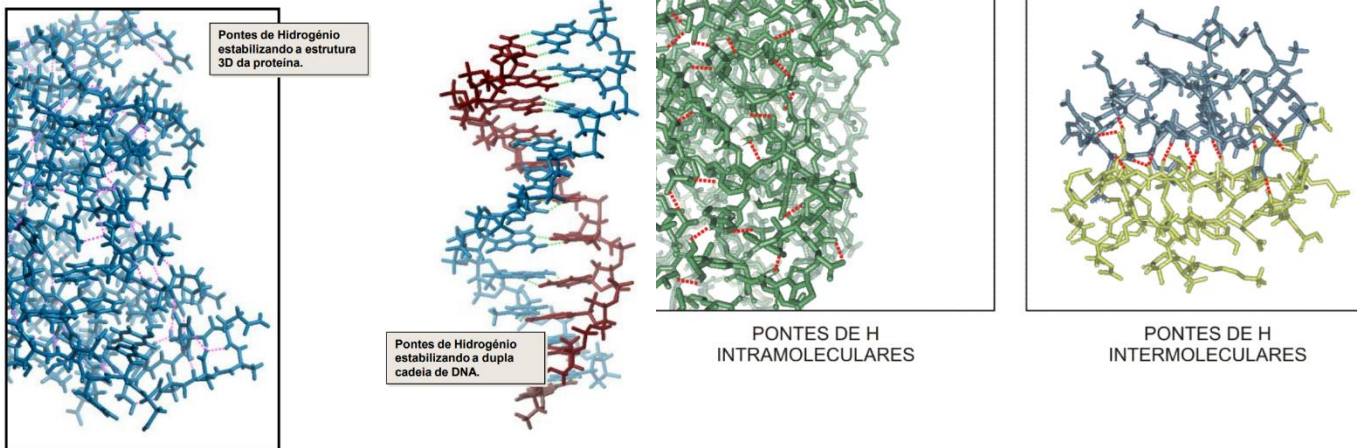
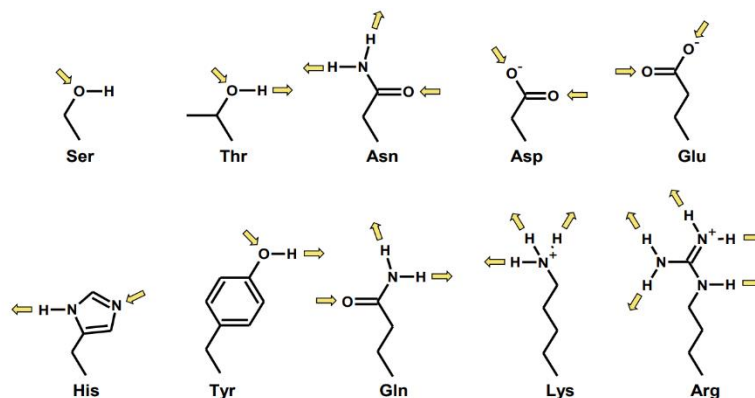
- **Entre moléculas polares e moléculas apolares**
    - Devido à presença de um ião ou molécula dipolar na vizinhança de um átomo ou molécula apolar, a

nuvem eletrónica desta pode sofrer uma distorção, deslocando-se mais para um dos lados do átomo ou molécula. O resultado é a formação de um dipolo induzido.

Forças de dispersão de London

- **Entre moléculas apolares**
    - A polarizabilidade é a maior ou menor facilidade com que a distribuição eletrónica de um átomo ou molécula neutra, pode ser distorcida. Geralmente, a polarizabilidade é tanto maior quanto maior o número de eletrões e maior o volume da nuvem eletrónica.

Pontes/ligações de hidrogénio

- **Caso particular das interações dipolo-dipolo**
    - As Pontes de Hidrogénio ou Ligações de Hidrogénio são tipos especiais de interações dipolo-dipolo (forças de van der Waals) entre o átomo de hidrogénio numa ligação polar e um átomo eletronegativo.
    - O átomo ligado ao hidrogénio é normalmente um dos três átomos electronegativos N, O ou F. O átomo de S, embora com uma electronegatividade inferior, pode também formar pontes de H. Exemplos: N—H - - - :O=C   O—H - - - :O=C   O—H - - - :OH   O—H - - - :S<

A ligação de hidrogénio é altamente direccional:

Interações hidrofóbicas

- Forças hidrofóbicas, propriamente ditas, não existem como forças agregadoras. As moléculas apolares tendem a agregarse entre si por isso permitir: maximizar os contactos (muito mais favoráveis) entre as moléculas de um solvente polar como a água; aumentar a entropia do solvente polar, logo, do sistema.

Interações não covalentes em moléculas biológicas

- Aminoácidos envolvidos em pontes de hidrogénio

Fatores Estereoquímicos e Reconhecimento molecular

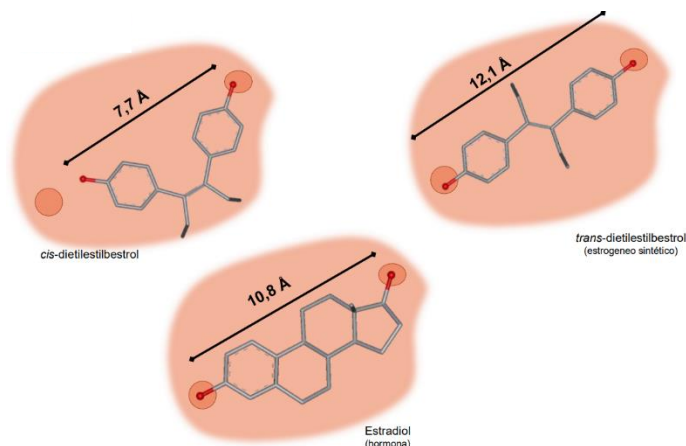
- ✓ Designam-se por **estereoisómeros** os compostos que apresentam a mesma fórmula molecular, a mesma estrutura química, mas que diferem na distribuição espacial dos seus átomos (ou grupos de átomos).

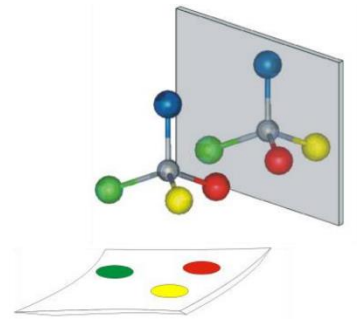
Isómeros: = nº átomos mas ≠ arranjos

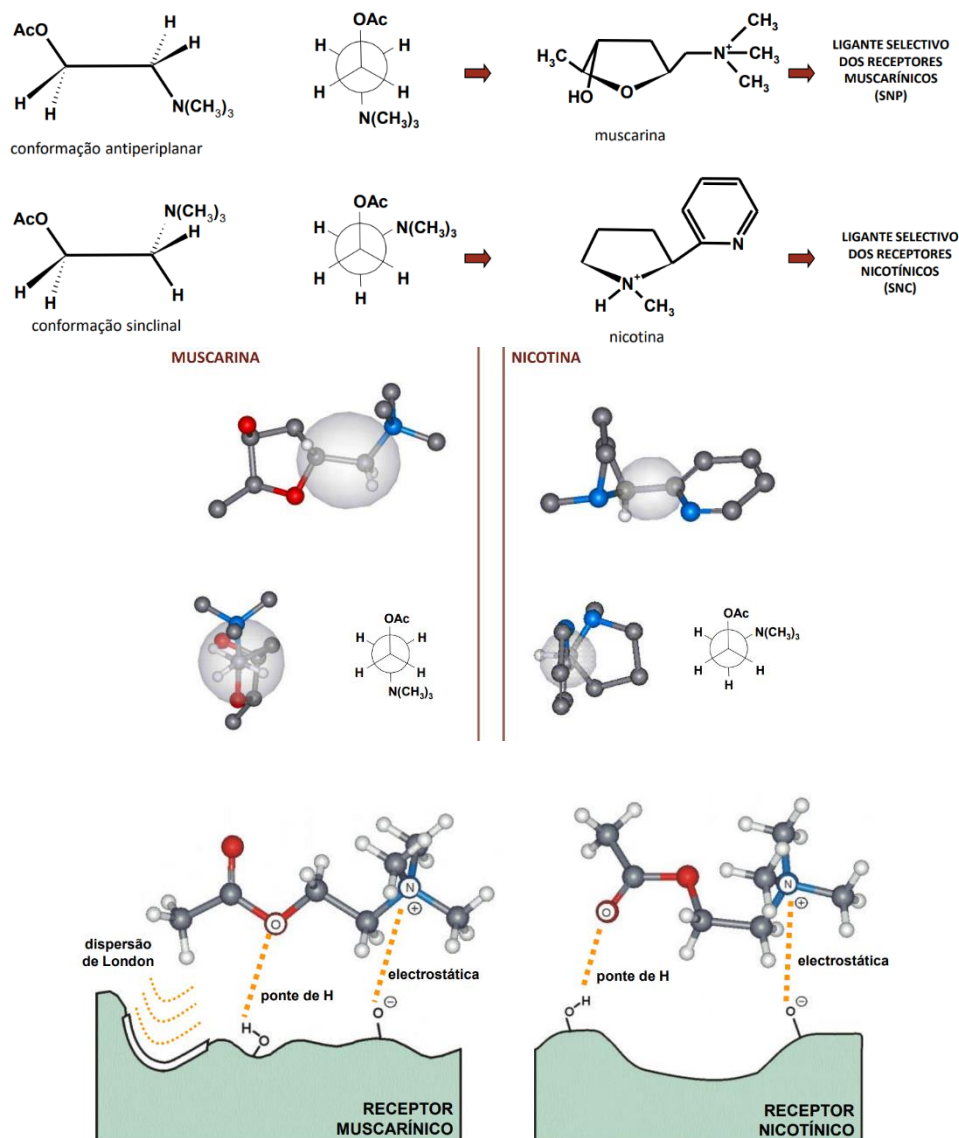
Enanteómeros → isómeros que são imagens espelhadas um do outro, não são sobreponíveis

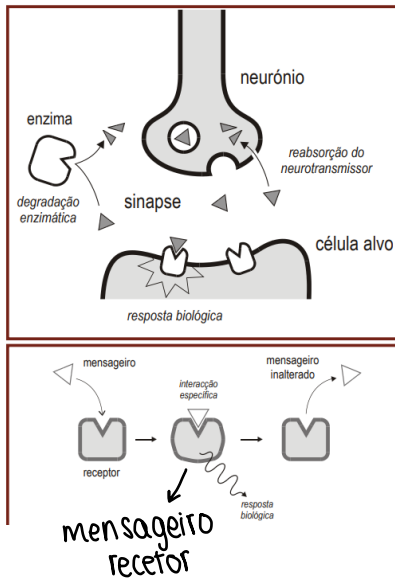
- ✓ **Isómeros geométricos, isómeros óticos e isómeros conformacionais são tipos de estereoisómeros**.
- ✓ Enquanto a interconversão de isómeros geométricos e de isómeros óticos é apenas possível se houver rutura de ligações, nos isómeros conformacionais a interconversão exige apenas a rotação em torno de uma ligação simples (é pouco energética).
- ✓ **Diaestereoisómeros** é o termo utilizado para designar isómeros geométricos, utilizando-se o termo **enanteómeros** para designar isómeros óticos. Dois estereoisómeros não podem ser simultaneamente diaestereoisómeros e enanteómeros: cada molécula pode ter diversos diaestereoisómeros, mas terá um único enanteómero.
- ✓ Emprega-se o **termo configuração** para designar arranjos espaciais passíveis de serem separados, enquanto o termo **conformação** é reservado às formas que diferem apenas na rotação em torno de uma ligação simples e que não são, normalmente, separáveis.
- ✓ Os diferentes isómeros conformacionais são muitas vezes referidos como **confórmeros.**

Isómeros geométricos → Diaestereoisómeros

- Os diaestereoisómeros são compostos de estrutura química idêntica, mas que apresentam uma distribuição espacial de grupos diferente.
- Possuem propriedades físico-químicas distintas que podem ser responsáveis por diferenças de comportamento significativas na fase farmacocinética e, consequentemente, por diferenças na biodisponibilidade.
- Na fase farmacodinâmica o reconhecimento molecular pode ser alterado significativamente pela diferença de geometria
- EXEMPLOS:

Isómeros óticos → Enanteómeros

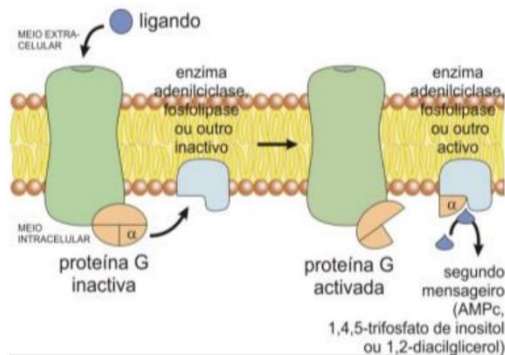
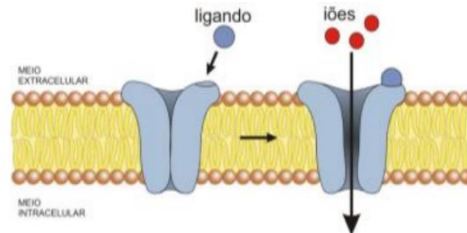
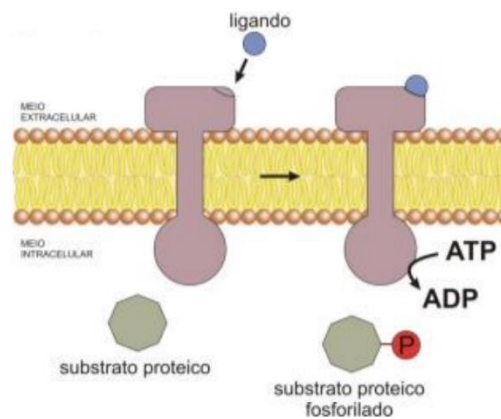
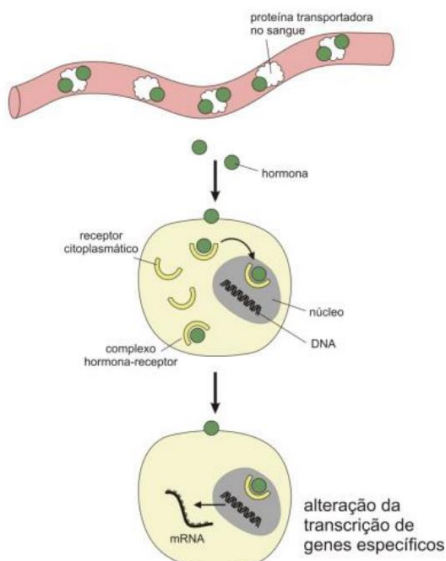
- Os enanteómeros são estereoisómeros em que a disposição dos átomos ou grupos é tal que os dois compostos não podem ser superpostos. Apresentam propriedades físico-químicas bastante semelhantes e, portanto, comportamentos durante a fase farmacocinética igualmente semelhantes. Na fase farmacodinâmica, os enanteómeros têm comportamentos diferentes, havendo sempre um com maior atividade biológica.

Isómeros conformacionais

EXEMPLO: acetilcolina

Interação de fármacos com recetores proteicos de membrana

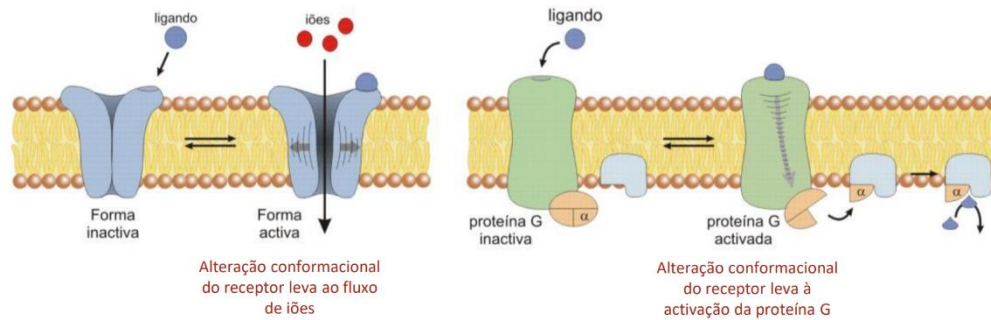
Ação sobre recetores proteicos

Os neurotransmissores são capazes de reconhecer em que recetor se ligar para formar o complexo neurotransmissor-recetor.

O mensageiro vai reagir com o recetor e vão formar o complexo mensageiro-recetor que irá dar resposta biológica. Após a resposta o mensageiro vai ter tendência a dissociar-se do recetor numa forma completamente inalterada para poder interagir novamente com o mesmo ou diferentes recetores.

Recetores proteicos e transdução do sinal

Recetores ligados à ativação de proteínas G

Recetores com atividade de canal iónico

Recetores com atividade de tirosina cinase

Recetores citoplasmáticos ou nucleares

Recetores membranares

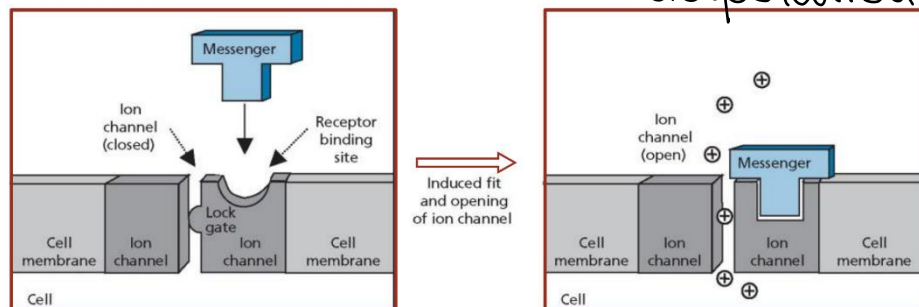
Mecanismo de alteração conformacional do recetor induzida pelo mensageiro

iões: Na^+ K^+ Ca^{2+} Cl^-

Os recetores ionotrópicos e metabotrópicos a interação ligando-recetor está sempre associada a alterações conformacionais que se fazem sentir ao longo da proteína transmembranar. (ionotrópicos-abertura de um poro; metabotrópicos- alteração da subunidade alfa)

→ Ligante (fármaco) liga-se ao recetor
→ Modifica a frequência de abertura dos canais: aumenta ou diminui a abertura e passagem de iões
→ Resultado: hiperpolarização ou despolarização

Forças intermoleculares:

- Interações iónicas (eletrostáticas)
- Pontes de hidrogénio
- Dispersão de London

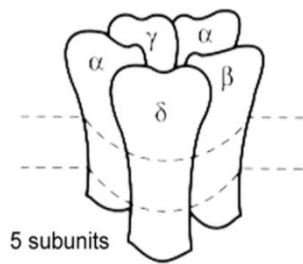
Recetores ionotrópicos

Resposta muito rápida (1-2 ms)

Duração da resposta (até 10 ms)

Hiperpolarização: desativa a célula
Despolarização: ativa a célula

Quando há a formação do complexo mensageiro-recetor a resposta biológica é imediata e faz logo efeito, leva logo á entrada ou á saída de iões.

Exemplos: Recetores da Ach na junção neuromuscular; recetores do glutamato e do ácido γ-aminobutírico (GABA); substâncias de abuso.

ACETILCOLINA

O recetor da acetilcolina é transmembranar e tem uma zona que esta colocada na membrana. As proteínas transmembranares têm duas características importantes: estruturas quaternárias, e as zonas que contactam com a membrana são sempre hélices α.

As hélices α são a estrutura secundária geralmente presente no domínio membranar

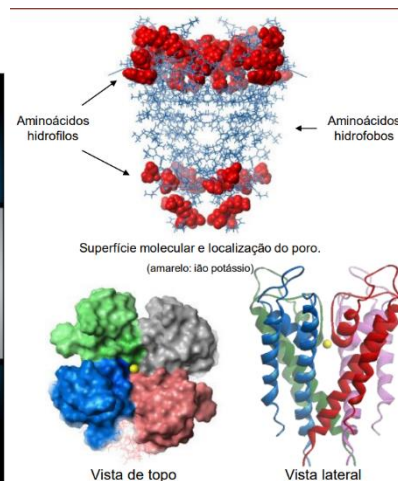
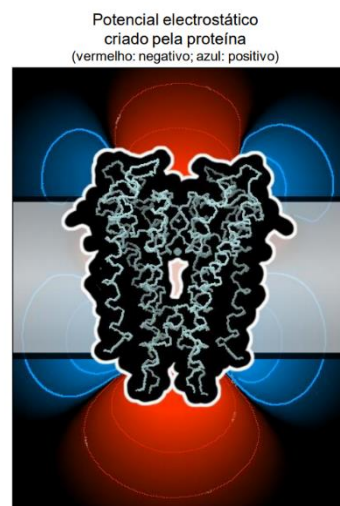
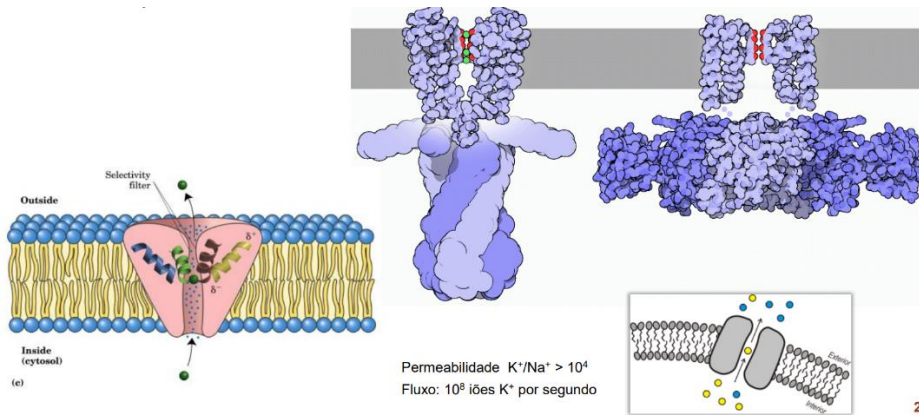
Recetores membranares

Estruturas proteicas: estruturas terciária e quaternária

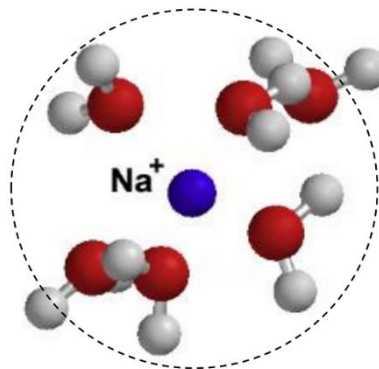
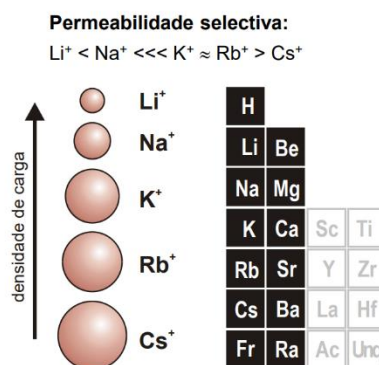
As hélices alfa são flexíveis e mexem-se enquanto a membrana da célula se mexe.

As folhas beta mantém a forma e a distância independentemente da fluidez da membrana.

Estrutura de um canal iónico

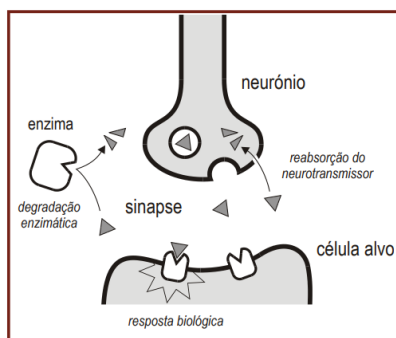
CANAL DE POTÁSSIO

Seletividade

Ver vídeo do moodle para a seletividade do K+

Quanto mais pequeno o ião maior é a densidade de carga maior é a carga á superfície maior é a força que atrai as cargas negativas. O Na+ puxa mais águas do que o K+ porque este é mais pequeno.

Seletividade K+ vs outros catiões monovalentes

O Na+, embora tenha um raio iónico menor que o K+, tem maior dificuldade em dissociar-se da sua esfera de solvatação.

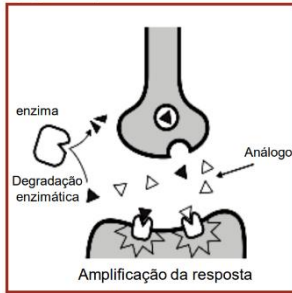
Regra geral, quanto maior a carga e a densidade de carga de um ião, maior a sua tendência a permanecer hidratado.

Modulação da resposta biológica de um neurotransmissor

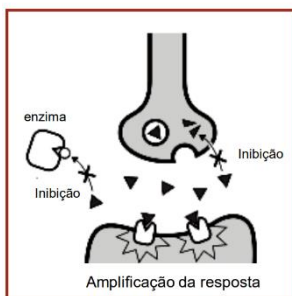
Ex: Acetilcolina

Muitos fármacos atuam alterando os níveis fisiológicos de resposta aos mensageiros químicos endógenos. Por exemplo, numa determinada terapia pode ser desejável amplificar ou inibir o efeito de um neurotransmissor. De forma a garantir um retorno rápido ao estado de repouso após a transmissão ter

sido despoletada, os neurotransmissores são desativados através da ação de enzimas sinápticas ou por reabsorção na célula pré-sináptica.

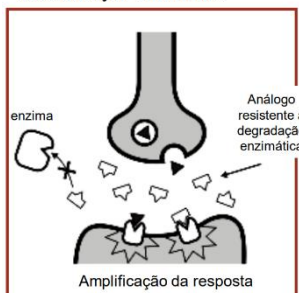
Amplificação da ação biológica de um neurotransmissor

1. Por administração directa de um análogo activo do NT (agonista)

Os neurotransmissores na fenda pós-sináptica tem um tempo de vida. Se há poucos recetores a transdução sinal vai ser menor. Quando adicionamos o análogo vai aumentar a concentração por isso a transdução sinal vai ser maior.

Há enzimas que degradam os neurotransmissores fazendo que não origine resposta.

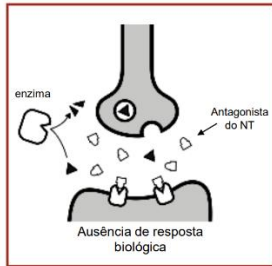
2. Por inibição da inactivação ou da reabsorção pré-sináptica do NT

Usa-se um fármaco (inibidor reversível, se for irreversível há morte) que seja inibidor da enzima fazendo com que o neurotransmissor estejas mais tempo na fenda sináptica.

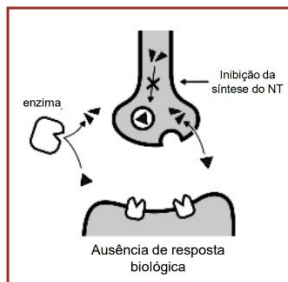
OU Retira-se os neurotransmissores da fenda sináptica por mecanismos de reabsorção no neurónio pré-sináptico.

3. Por administração de um análogo activo mais resistente à inactivação enzimática

O análogo consegue ligar se a recetor e não é degradado pela enzima então fica lá mais tempo. **Os análogos que são fármacos quimicamente equivalente ao mensageiro endógeno e que dê resposta ➔ Agonistas**

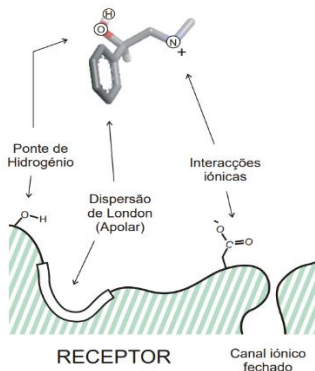
Mensageiro exógeno ➔ fármaco

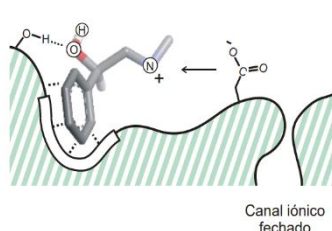
Inibição da ação biológica de um neurotransmissor (antagonista)

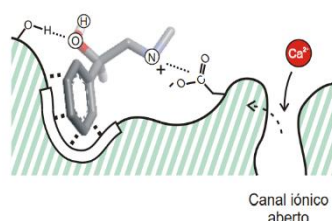
1. Por administração de um análogo inactivo do NT (antagonista)

Interage com o recetor e não provoca uma alteração conformacional no recetor formando um complexo antagonista-recetor, mas não origina resposta biológica

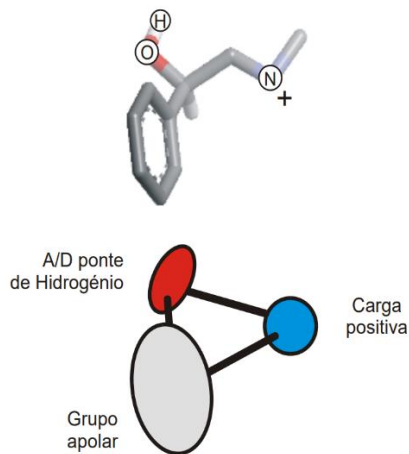
2. Por inibição da síntese do NT no neurónio pré-sináptico

Adiciono um inibidor da síntese do neurotransmissor impedindo a formação e libertação para a fenda sináptica.

Ação de fármacos em recetores ionotrópicos

Mecanismo de alteração conformacional do recetor induzida pelo mensageiro

Dispersão de London- interações hidrofóbicas

Carga negativa - interação iónica

O anel aromático encaixa na zona apolar e tem um OH que se vai ligar ao que está no recetor.

A carga negativa do recetor só consegue ser atraída pela carga positiva se o recetor tiver uma zona flexível, possibilidade de um ajuste do recetor até atingir a distância ótima originado a abertura de um canal por exemplo iónico.

A interação entre o neurotransmissor e o recetor é extremamente específica. No entanto o ajuste não é perfeito, caso contrário, a interação seria forte, mas não daria origem à alteração conformacional do recetor.

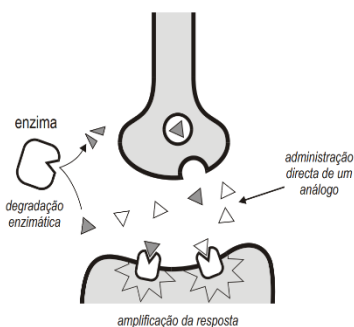
Noção de Farmacóforo

O grupo OH é responsável pela ponte de hidrogénio (vermelho)

Estes grupos são responsáveis pela alteração conformacional do recetor e da formação do complexo chamamos grupos farmacofóricos e o seu conjunto é o farmacóforo

Para funcionar como agonista, o fármaco deverá possuir:

- Os grupos químicos equivalentes
- Esses grupos corretamente posicionados no espaço
- O tamanho e a forma adequados.

Farmacóforo ➔ É caracterizado pelos grupos químicos responsáveis pela interação com o recetor, bem como pela sua distribuição espacial.

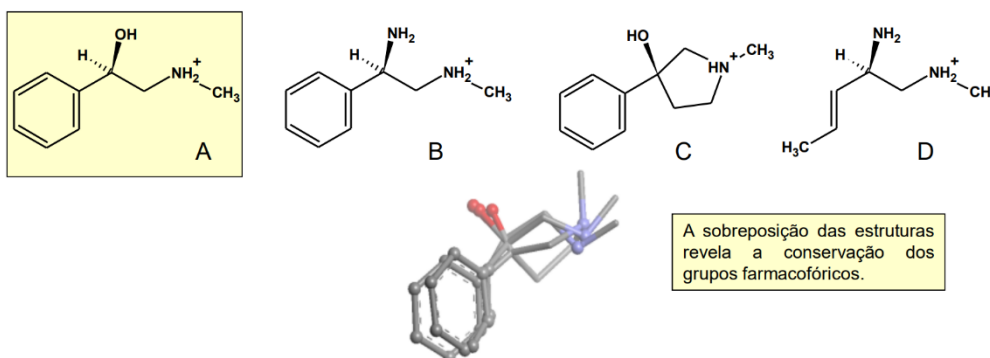
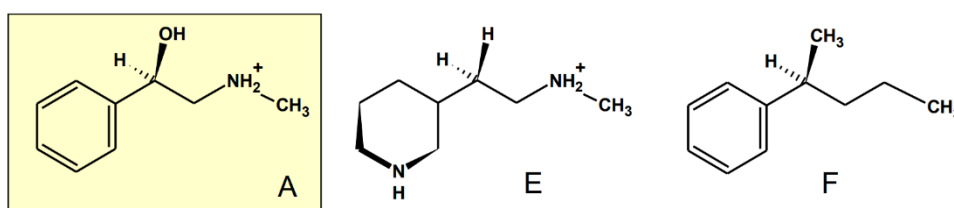
Noção de Agonista

Muitos fármacos atuam mimetizando a ação de mensageiros endógenos.

Um composto que é capaz de interagir com o recetor de um determinado mensageiro endógeno, produzindo a mesma resposta biológica, designa-se por seu **AGONISTA**.

São todos os compostos que mantem a interação com o recetor para dar origem á resposta biológica

Design de Agonistas

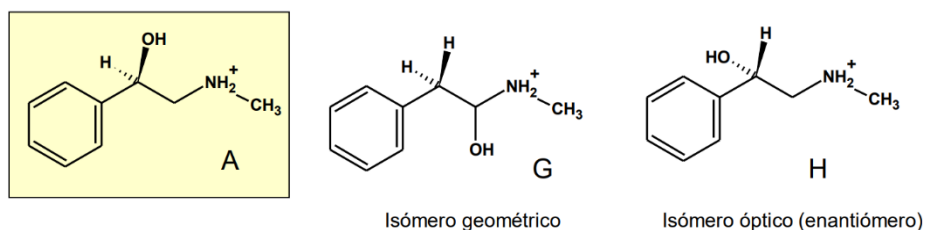
<u>1. Os grupos químicos equivalentes</u>

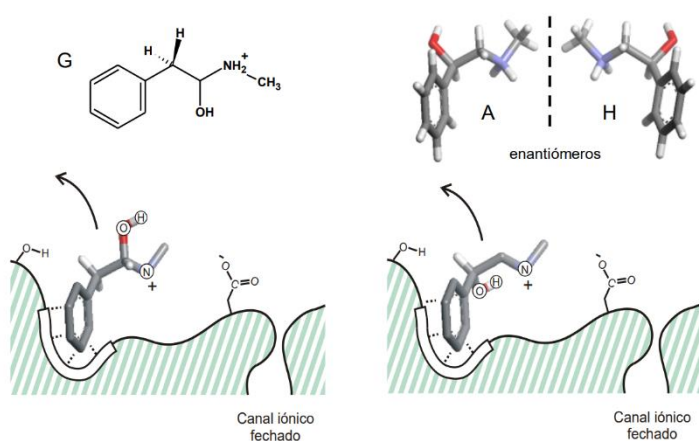
A sobreposição das estruturas revela a conservação dos grupos farmacofóricos.

- O **B** é agonista pois o grupo NH2 também faz pontes de hidrogénio apesar de ser mais fraca que em A
- O **C** é agonista pois o que mudou foi a região não farmacofórica
- O **D** só conseguimos saber se fizermos uma sobreposição

Estes compostos não possuem um ou mais dos grupos que caracterizam o farmacóforo do mensageiro natural.

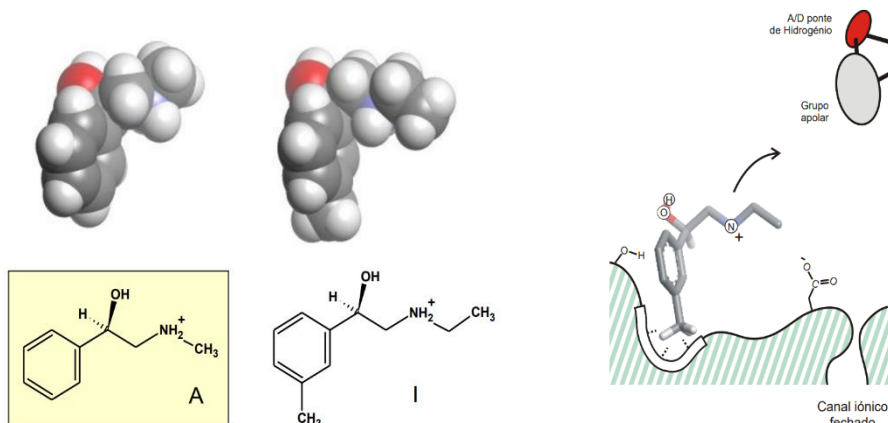
- O **E** não faz nada ao recetor porque trocamos o OH por um H então não se formam pontes de hidrogénio não conseguindo interagir com o recetor
- O F é a mesma coisa houve alteração dos grupos farmacofóricos

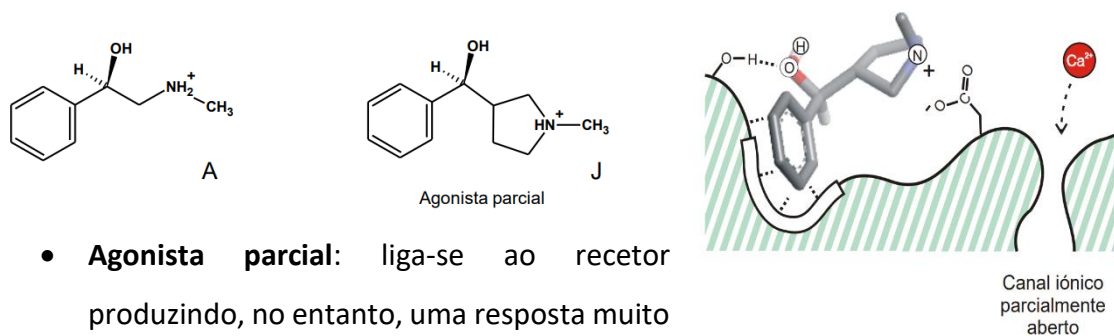
<u>2. Esses grupos corretamente posicionados no espaço</u>

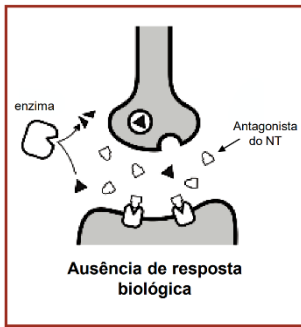
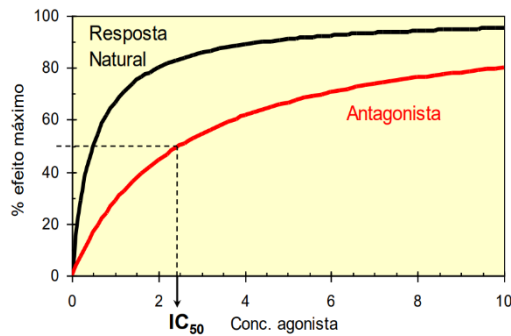
Isómero geométrico

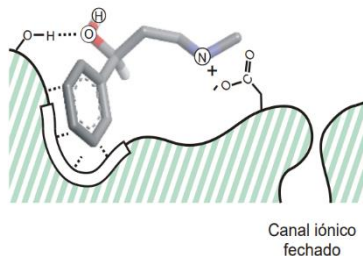
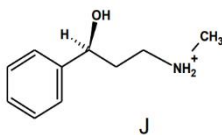
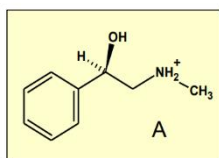
Isómero óptico (enantiómero)

Estes compostos possuem exatamente os mesmos grupos que o mensageiro natural (são isómeros), mas não estão corretamente posicionados

- O **G** retiramos o grupo farmacofórico e fomos pô-lo noutro sítio

- O **H** trocamos o OH com o H, está espelhado

3 - O tamanho e a forma adequados

- O I tem um CH3 alterando assim a forma e o tamanho logo não irá encaixar, fazendo com que não haja a formação de pontes de hidrogénio nem atração da carga positiva

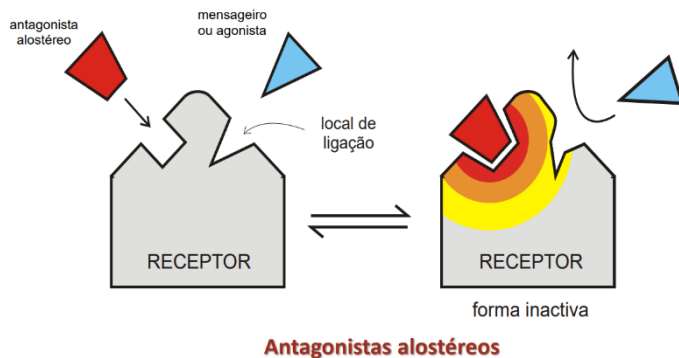
Noção de Agonista parcial e de Super agonista

- **Agonista parcial**: liga-se ao recetor produzindo, no entanto, uma resposta muito mais ténue, independentemente da sua concentração. Em J a carga positiva está mais próxima da carga negativa do que em A, logo a abertura do canal iónio será menor
- **Super agonista:** Composto capaz de ligar-se ao recetor, produzindo uma resposta mais forte que o seu análogo natural

Noção de Antagonista

Muitos fármacos acuam bloqueando os recetores dos mensageiros endógenos. Um **ANTAGONISTA** de um determinado mensageiro endógeno é um composto capaz de se ligar fortemente ao seu recetor sem, no entanto, produzir resposta biológica.

O antagonista não origina resposta biológica, mas necessita da presença de substrato e de mensageiro natural para se observar a sua curva de resposta e como altera a do mensageiro natural, ex: a curva baixou (vermelho)

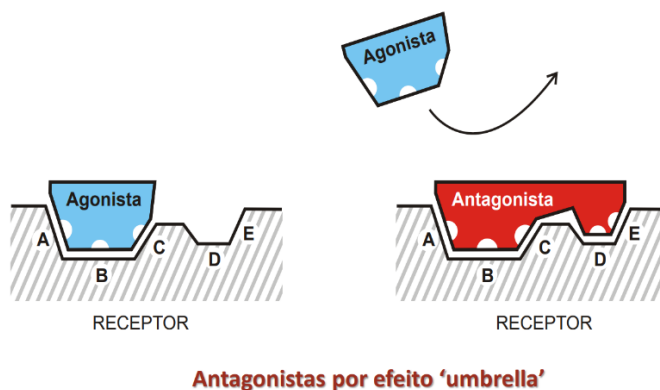
Design de Antagonistas competitivos (antagonistas que interagem com o recetor no mesmo local do mensageiro natural)

Em J a carga positiva está mais afastada dos restantes grupos farmacofóricos logo este composto vai ser antagonista fazendo com que a carga positiva interaja com a negativa do recetor levando á não abertura do canal iónico.

A ligação do antagonista é geralmente mais forte e mais “perfeita”, o que faz com que o recetor não sofra alterações conformacionais

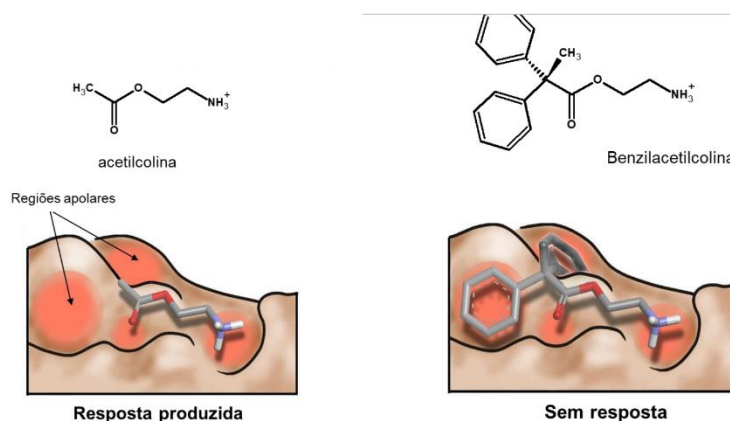
Design de Antagonistas não-competitivos (antagonistas que interagem com o recetor em locais distintos dos do mensageiro natural)

Antagonistas alostéreos

Temos um mensageiro que interage com o local de ligação e temos uma molécula que quando interage com o recetor o irá deformar no local de ligação do mensageiro fazendo com que este não se consiga ligar temos um antagonista alostéreo ou antagonista não competitivo.

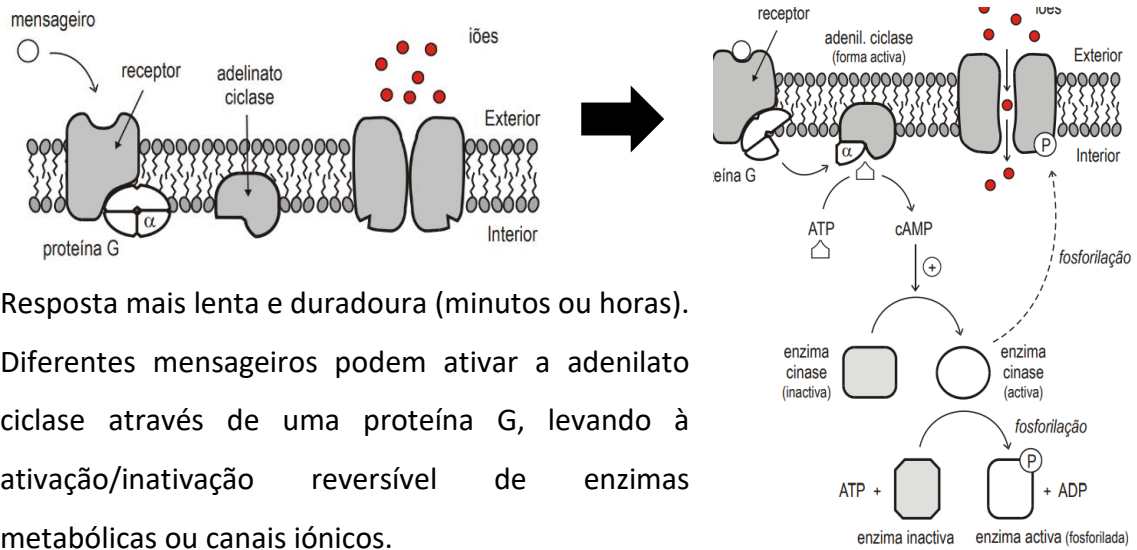
O que distingue um **competitivo** de um **não competitivo** é que o competitivo quando aumentamos a quantidade de mensageiro conseguimos continuar a ter mais resposta se for não competitivo quando aumentamos a concentração de mensageiro não temos resposta.

Antagonistas por efeito 'umbrella'

O agonista utiliza apenas as zonas A, B e C

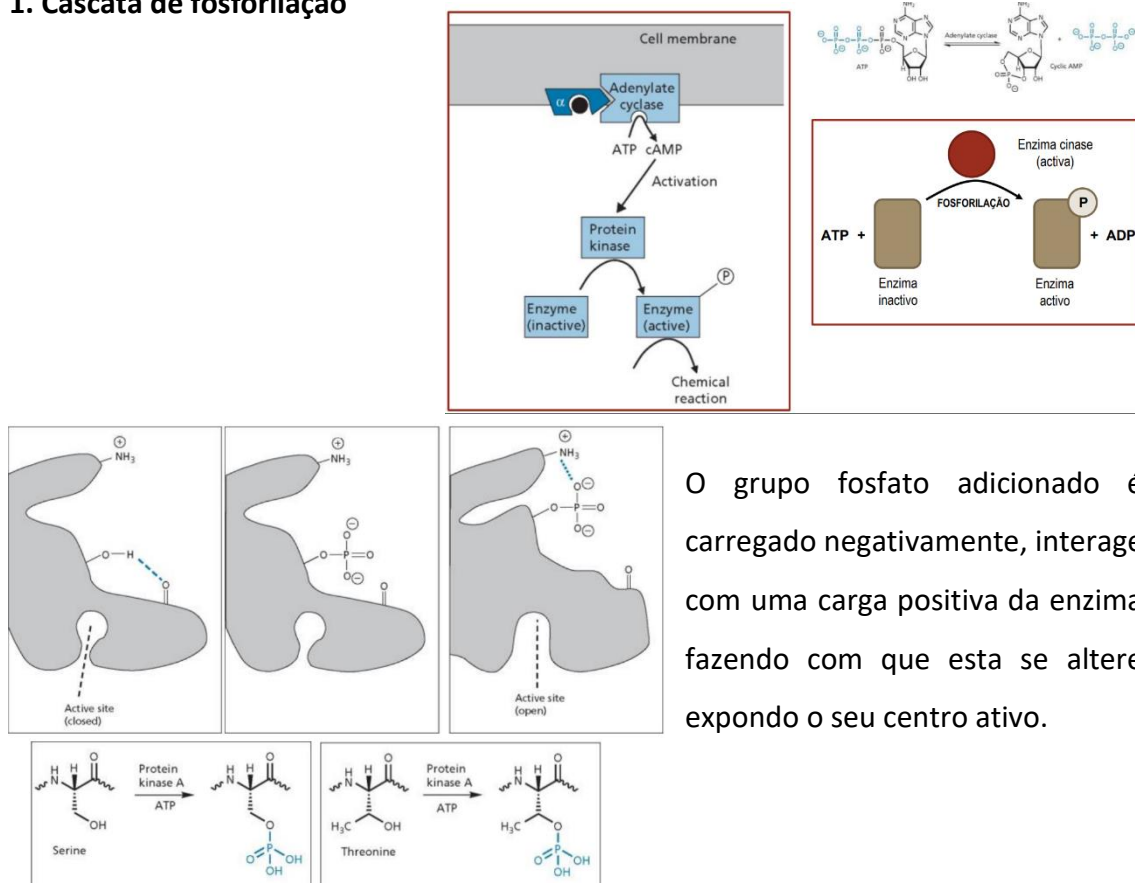
Se usarmos outra molécula que ocupa todas as zonas esta molécula funciona como antagonista, pois interage em zonas diferentes que o agonista

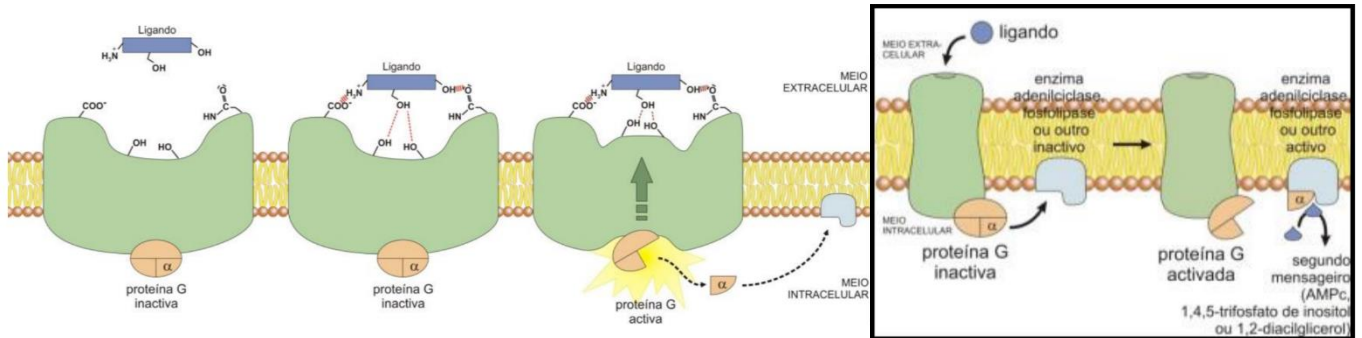
EXEMPLO: Benzilacetilcolina (antagonista da acetilcolina com ação por efeito "umbrela")

A benzilacetilcolina interage com o recetor todo e a acetilcolina não interage com as zonas polares, logo a benzilacetilcolina é antagonista.

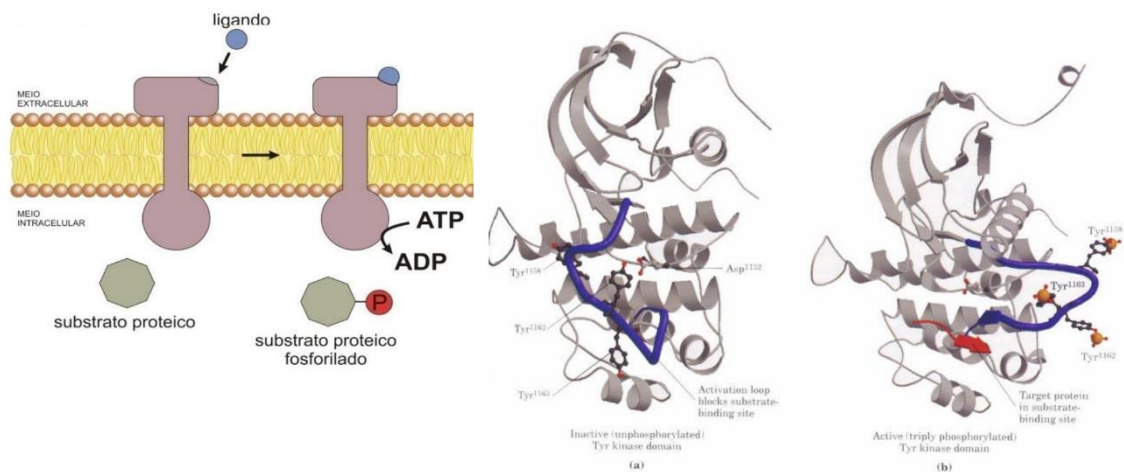
Recetores metabotrópicos

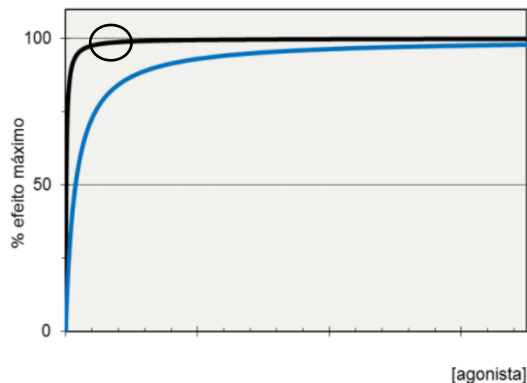
Recetores acoplados a proteína G

Resposta mais lenta e duradoura (minutos ou horas). Diferentes mensageiros podem ativar a adenilato ciclase através de uma proteína G, levando à ativação/inativação reversível de enzimas metabólicas ou canais iónicos.

Efeito de amplificação: Uma só molécula mensageira dá origem à formação de muitos mensageiros secundários que, por sua vez vão ativar muitas moléculas de enzimas ou canais iónicos.

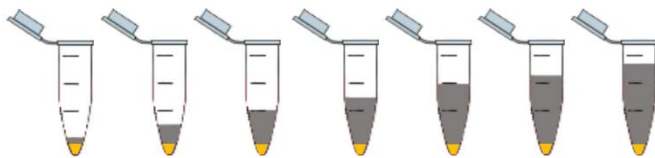
1. Cascata de fosforilação

O grupo fosfato adicionado é carregado negativamente, interage com uma carga positiva da enzima fazendo com que esta se altere expondo o seu centro ativo.

2. Design de agonistras

Quando o ligando interage com o recetor interage via interações electroestáticas ou iónicas num ponto, noutro via pontes de hidrogénio e depois no meio tem um grupo OH que é sentido por outros dois grupos OH do recetor que tem uma distância mais longa que a ótima fazendo com que o recetor seja puxado criando a distância ótima. O recetor altera a sua conformação libertando a subunidade alfa da proteína G, que se irá ligar á enzima efetora ativando-a.

Recetores com atividade de tirosina cinase

Curva de resposta

Relações concentração de ligando-resposta biológica

Chega a um ponto onde não vamos observar mais resposta pois todos os recetores da célula estão ocupados e a curva irá aplanar.

O mesmo ligando pode ser ligar várias vezes ao mesmo recetor ou a diferentes na mesma célula.

PARTE EXPERIMENTAL

Temos 7 tubos para traçar uma curva [agonista]

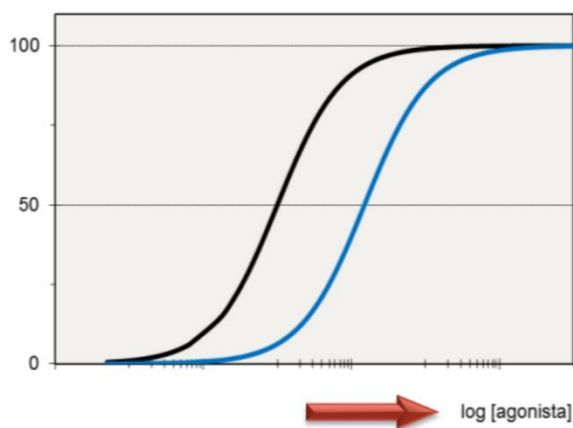
Para fazer uma curva igual á de mensageiro natural preciso de adicionar recetores fazendo um sistema fechado para ter um meio intracelular e outro extracelular

Vamos pôr a mesma quantidade de "recetor" (amarelo) nos tubos e quantidades crescentes de agonista ou mensageiro endógeno (cinzento).

EXEMPLO: No 1º tubo temos 0 de recetor e 70 de tampão; no 7º tubo temos 70 de recetor e 0 de tampão.

- Se no tubo 3 tivéssemos recetores = mensageiro há um crescimento exponencial
- Se no tubo 4 tivéssemos mais mensageiro do que recetores observamos um crescimento mais lento
- No tubo 7 há saturação dos recetores por isso começa a aplanar

A resposta biológica depende do nº de recetores MINUTO 40:50

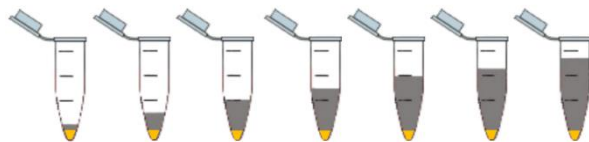
EC50 é a concentração molar de ligando (agonista) que origina metade da resposta biológica que se observa quando o ligando complexa com o recetor

O y=50 é o **EC50** - concentração molar de ligando (agonista) que origina metade da resposta biológica que se observa quando o ligando complexa com o recetor

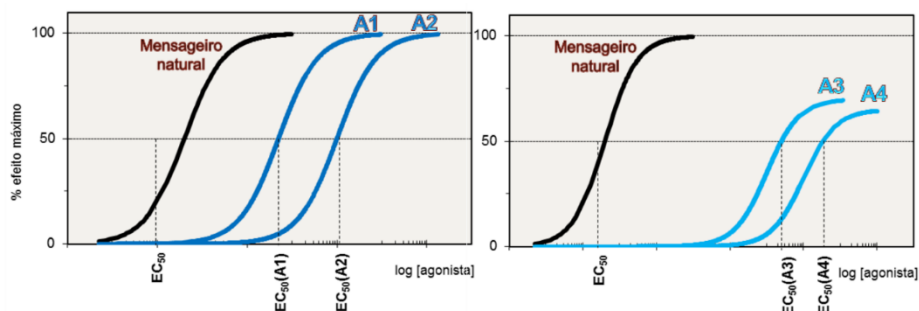
Preto – mensageiro natural

Azul – agonista total porque também atinge o 100%

Precisamos de uma maior concentração de agonista para atingi os 100%

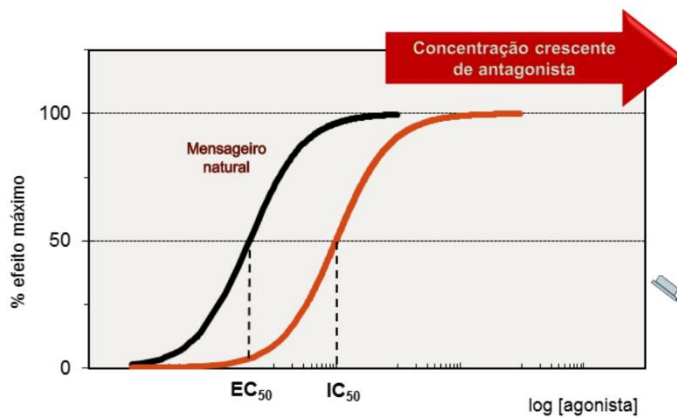
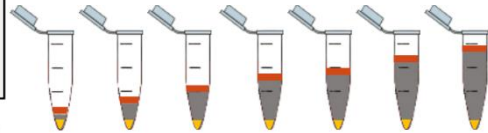
Teste do padrão interno

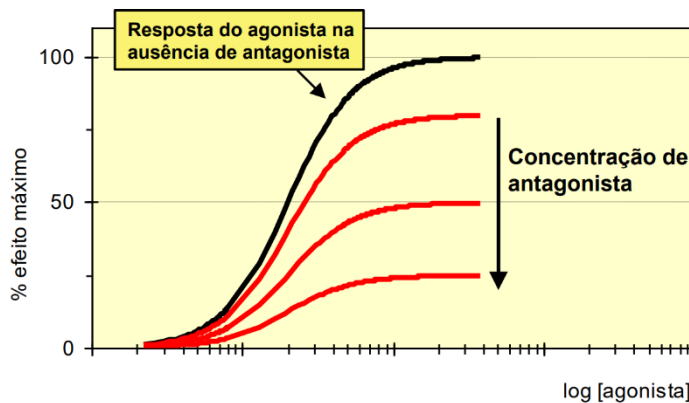
Quando adicionamos quantidade conhecida de um elemento de referência no padrão e na amostra

- Metemos igual quantidade de agonista
- Metemos igual quantidade de recetor
- Metemos quantidade crescente de mensageiro natural

Agonistas e agonistas parciais

A1 e A2 – Agonistas do mensageiro natural mas com valores de EC_{50} diferentes

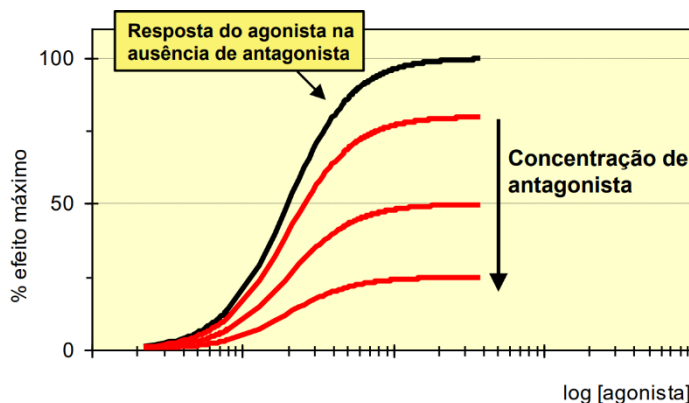
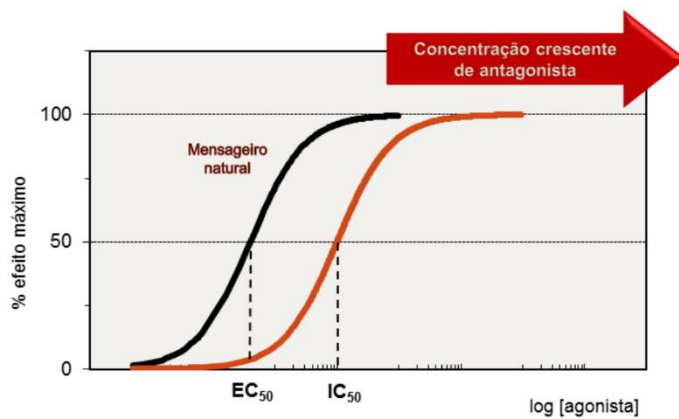
A3 e A4 – Agonistas parciais do mensageiro natural

- A3 e A4 originam resposta biológica.
- A1 é mais potente que A2.
- Se adicionássemos um A5 (recetor ionotrópico) não haveria reação; se A5+ MN a curva fica igual á preta, ou seja, o A5 não altera a reação.

Efeito da presença de um antagonista competitivo

Se adicionássemos um A6 (antagonista competitivo) não haveria reação; se A6+MN a curva iria recuar.

Quando A6 aumenta a curva desloca-se cada vez mais para a direita e aumenta o valor de IC50.

Efeito da presença de um antagonista não-competitivo

Estes antagonistas distinguem-se porque não chegam ao 100%

Quanto maior for a quantidade de antagonista maior é o afastamento do patamar.

EXEMPLOS TESTE

Se tivermos um gráfico assim e nos perguntarem o que é a curva vermelha podemos responder que é: Um antagonista não competitivo se tivermos na presença de MN ou um agonista parcial se não tivermos presente o MN. Se não nos derem condições experimentais temos as duas hipóteses.

Se tivermos um gráfico assim e nos perguntarem o que é a curva vermelha podemos responder que é: um antagonista competitivo se tivermos presente MN ou um agonista.

Teorias da interação ligando-recetor

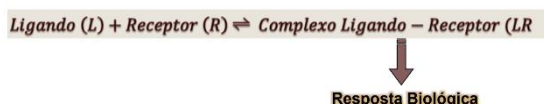
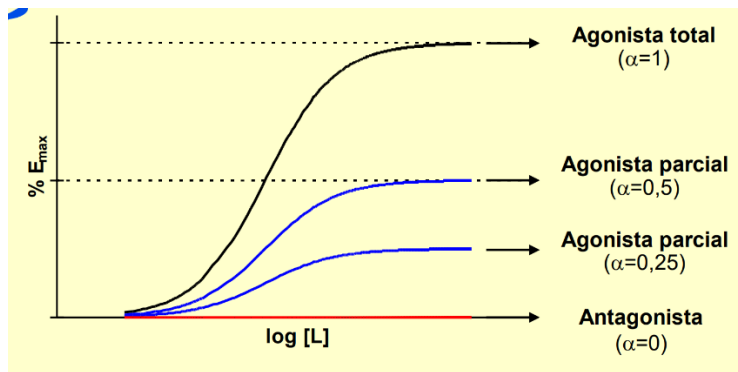
Nos últimos 80 anos têm sido avançadas algumas teorias relacionadas com a ação dos ligandos nos recetores proteicos de membrana, teorias essas que visam explicar:

- a ação de alguns compostos como agonistas do mensageiro natural e com potências distintas;
- a ação de alguns compostos como antagonistas do mensageiro natural;
- a razão pela qual um mesmo composto pode atuar como agonista num tecido, como agonista parcial noutro tecido e como antagonista num terceiro tecido diferente, ainda que essa ação seja sobre o mesmo recetor.

É de salientar, porém, que nenhuma delas consegue descrever todos os casos conhecidos.

As 3 principais teorias são:

1. Teoria da ocupação

Clark visualizou a interação ligando-recetor como um equilíbrio dinâmico bimolecular, no qual as moléculas de ligando se ligam ao recetor e dele se libertam continuamente. Sendo a resposta biológica resultante da formação do complexo ligando-recetor, tem-se, esquematicamente

Segundo Clark, a magnitude da resposta biológica é diretamente proporcional ao número de recetores ocupados pelo ligando: quanto mais recetores estiverem ocupados, mais intensa será a resposta biológica, pelo que maior será o efeito

farmacológico (E) do ligando. Adicionalmente, Clark postulou que o máximo de resposta (e, portanto, o máximo de efeito - Emax) corresponde à ocupação da totalidade dos recetores (RT).

Assim só temos resposta quando temos o complexo ligando-recetor formado quando este se separa deixamos de ter resposta.

2. Teoria da velocidade

A resposta biológica ocorre apenas quando se dá o início da formação do complexo ligando-recetor, quando se forma um complexo muito estável deixa de haver o a resposta biológica. Para que haja um novo estímulo, é necessário que o ligando se dissocie do recetor, deixando-o assim acessível para a formação de um novo complexo com outra molécula de ligando, a qual originará novo estímulo.

De acordo com esta teoria, a constante de velocidade de dissociação do complexo ligando-recetor determina se um fármaco se comporta como agonista, agonista parcial ou antagonista:

- Um agonista dissociar-se-á rapidamente do recetor de modo a permitir associações frutíferas
- Um agonista parcial dissociar-se-á mais lentamente do que um agonista
- Um antagonista dissociar-se-á muito lentamente do recetor, prevenindo a ligação de agonistas

3. Teoria da alosteria

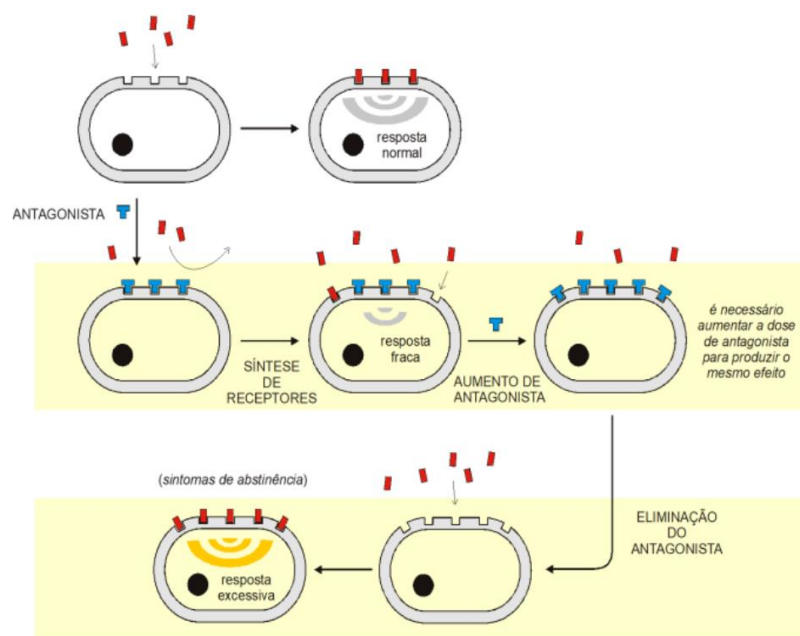
Nesta teoria temos uma forma tensa e outra relaxada, significa que os recetores nem sempre estão na mesma conformação tem várias conformações possíveis e estáveis

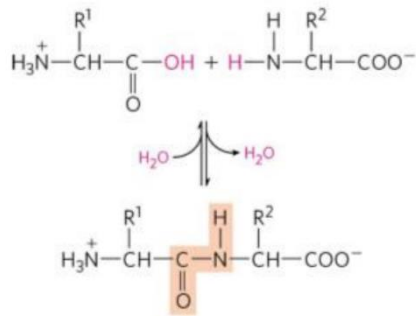
entre a forma tensa e a relaxada, dependendo do recetor tem mais ou menos conformações possíveis.

- O modelo MWC considera que os estados conformacionais do recetor existem independentemente do ligando e que este exerce o controlo estabilizando uma das formas. Um ligando comporta-se como agonista, agonista parcial ou antagonista dependendo da sua afinidade para as formas R e T.
- O modelo KNF considera que o próprio ligando pode induzir a alteração da conformação do recetor.

Assim, um ligando comporta-se como agonista, como agonista parcial ou como antagonista em função da sua capacidade de induzir estados conformacionais ativos ou inativos.

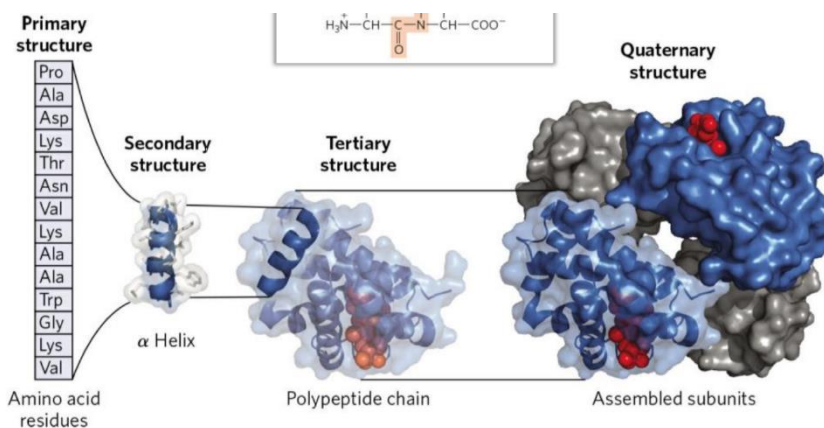
Qualquer destes modelos define com precisão a relação entre ligação e efeito. Porém, para a definir podem ter de ser propostos diferentes estados conformacionais, e estimar todas as constantes de equilíbrio envolvidas pode tornar um sistema simples num problema complexo.

Mecanismos de tolerância e dependência

Interação de Fármacos com Enzimas

Níveis de estrutura das proteínas

As proteínas são cadeias lineares de resíduos de aminoácidos.

🡐 formação de uma ligação peptídica

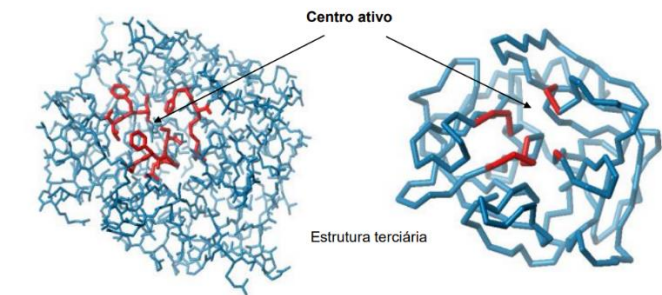
Importante saber:

- Resíduos de aminoácidos que têm cargas positivas que são a lisina e a arginina;
- Resíduos de aminoácidos que têm cargas negativas que são aspartato e o glutamato;
- Às vezes a histidina e a sistanina;
- Os que têm aromáticos porque têm grandes zonas apolares

Estrutura primária: Resíduos que são adjacentes ligados por ligações peptídicas podem assumir uma estrutura secundária, hélices alfa, folhas beta(- flexíveis) ou loops (+ flexíveis). As hélices alfa são o próprio fragmento a enrolar-se em si próprio.

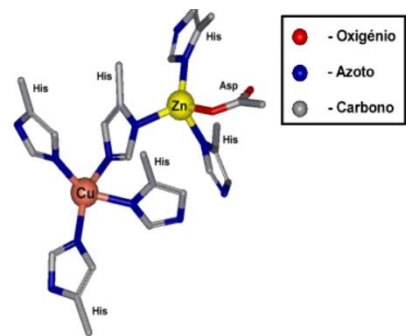
Estrutura secundária: Um fragmento da proteína que é constituído por resíduos de aminoácidos ligados uns aos outros

Estrutura terciária: junção de zonas que na estrutura primária não estavam juntas, uma proteína cujo enrolamento com os cofatores são suficientes para ser funcional; uma única cadeia polipeptídica 🡒 **monómero**

Estrutura quaternária: uma proteína constituída por mais que uma cadeia polipeptídica, só é funcional quando as subunidades estão ligadas e tem os seus cofatores → dímero, trímero (se forem iguais é um homo-, se forem diferentes é um hétero-)

Estrutura do centro ativo das enzimas

Espacialmente o centro ativo está todo concentrado num só sítio onde o substrato se liga.

Na sequência primária os resíduos de aminoácidos a vermelho, centro ativos, nem sempre estão em posições adjacentes na cadeia linear.

Exemplo: Superóxido dismutase de Cu/Zn

As superóxidos dismutase ou SODs têm sempre dois metais, têm sempre um dos metais que às condições fisiológicas consegue alterar o seu estado de oxidação. O Zn não consegue, nas condições fisiológicas, rapidamente doar ou receber eletrões; a receber eletrões, receberia dois para se tornar em Zn 0 (é liga metálica).

O Cu como passa facilmente de Cu+ para Cu 2+, vai receber eletrões do substrato da enzima e vai doar eletrões também formando o oxigénio molecular e peróxido de hidrogénio. O Cu vai estra no centro ativo ligado a 4 histidinas, o Zn está ligado a 2 histidinas e a 1 aspartato.

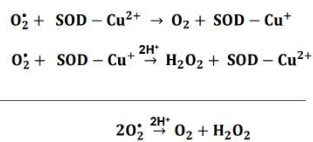
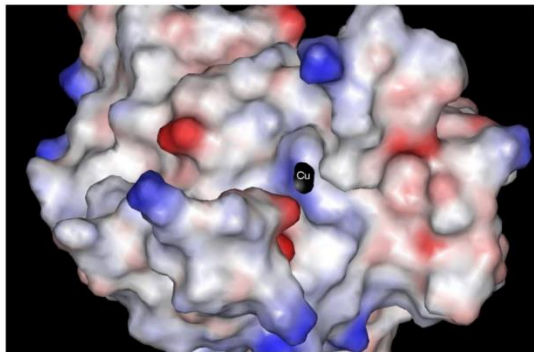
A estrutura primária das enzimas é alterada como consequência de mutações que

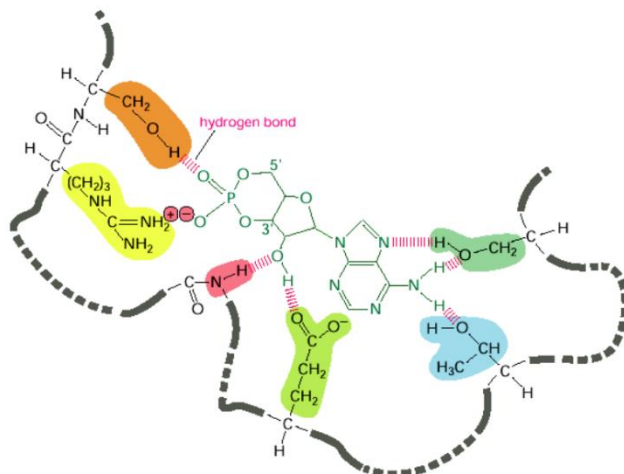
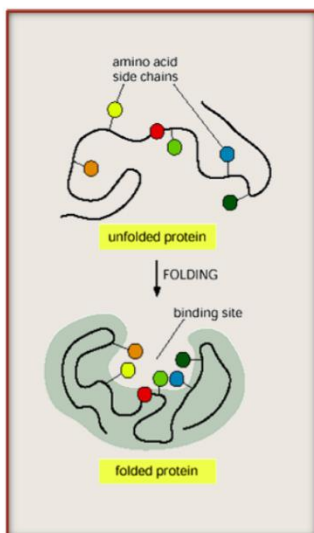
Homo sapiens	--------------------MATKAVCVLKGDGPVQGIINFEQKESNGPVKVWGSIKGLTEGLHGFHVHEFGDNTAGCT--------S
Equus caballus	--------------------MALKAVCVLKGDGPVHGVIHFEQQQEGGPVVLKGFIEGLTKGDHGFHVHEFGDNTQGCT--------T
Drosophila melanogaster	--------------------MVVKAVCVINGDAK--GTVFFEQESSGTPVKVSGEVCGLAKGLHGFHVHEFGDNTNGCM--------S
Spinacia oleracea	--------------------MGKAVVVLSSSEGVS-GTVYFAQEG-DGPTTVTGNVSGLKPGLHGFHVHALGDTTNGCM--------S
Saccharomyces cerevisiae	--------------------MVQAVAVLKGDAGVSGVVKFEQASESEPTTVSYEIAGNSPNAERGFHIHEFGDATNGCV--------S
Escherichia coli	MKCKIIAAIAMLTAASCGYAAEQEVPMNLVSADGKEVSIGKITIQETPYGLLFTPALHSLSEGIHGFHVHEKGNCAPALKDGKPVAALS

H. sapiens	AGPHFNPL-SRKHGGPKDEERHVGDLGNVTADKKDGVADVSIEDSVISLSGDHCIIGRTLVVHEKADDLGKGGNEESTKTGNAGSRLACGVIGIAQ
E. caballus	AGAHFNPL-SKKHGGPKDEERHVGDLGNVTADENGKADVDMK-DSVISLSGKHSIIGRTMVVHEKQDDLGKGGNEESTKTGNAGSRLACGVIGIAP
D. m.	SGPHFNPY-GKEHGAPVDENRHLGDLGNIEATGDCPTKVNIT-DSKITLFGADSIIGRTVVVHADADDLGQGGHELSKSTGNAGARIGCGVIGIAKV
S. oleracea	TGPHYNPN-GKEHGAPEDDVRHAGDLGNITVGDDGTATFTII-DSQIPLSGPNSIVGRAVVVHAEPDDLGRGGHELSKTTGNAGGRVACGIIGLQG
S. cerevisiae	AGPHFNPF-KKTHGAPTDEVRHVGDMGNVKTDENGVAKGSFK-DSLIKLIGPTSVVGRSVVIHAGQDDLGKGDTEESLKTGNAGPRPACGVIGLTN
E. coli	AGGHFDPKNTGKHLGPWSPDGHLGDLPALFVTHDGKANYPVLAPRLNSLKEIK---GRSLMLHAGGDNHHDHPEPLGGGGARMACGIIQ

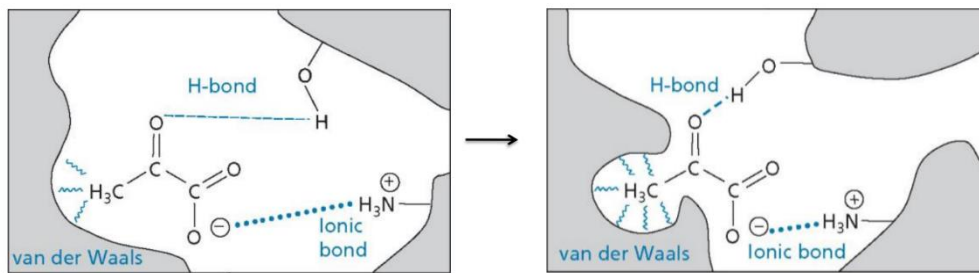
ocorrem durante o processo evolutivo. Contudo, verifica-se haver conservação dos resíduos de aminoácidos que são essenciais à atividade enzimática, por exemplo as histidinas nos centros ativos.

POR EXEMPLO: A bactéria é a única que tem uma zona inicial isto significa que a SOD evolui no sentido de perder esta zona inicial pois não era necessária.

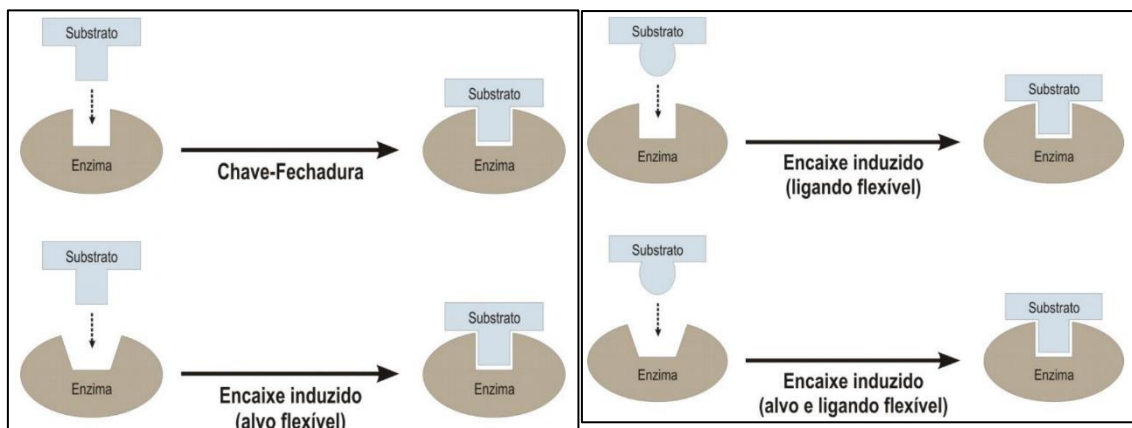
$$O_2^{\cdot} + SOD - Cu^{2+} \rightarrow O_2 + SOD - Cu^{+}$$
$$O_2^{\cdot} + SOD - Cu^{+} \xrightarrow{2H^+} H_2O_2 + SOD - Cu^{2+}$$
$$2O_2^{\cdot} \xrightarrow{2H^+} O_2 + H_2O_2$$

Quando a SOD está na forma oxidada (Cu 2+) o Cu2+ recebe um eletrão que está no radical de O2 (superóxido) e fica na forma de Cu+ e o O2 fica oxigénio molecular. A enzima quando está na forma reduzida (Cu+) pode ligar-se a outro radial superóxido doando-lhe um eletrão transformando-o em peróxido de hidrogénio (H2O2), havendo a regeneração da enzima.

O cobre está á superfície da enzima, no centro ativo, para que o substrato se possa ligar, está rodeado com cargas positivas (azul) para que o radical superóxido (carga negativa) possa ser atraído mais facilmente.

No centro ativo estão as cadeias laterais que conseguem interagir com os substratos por interações mais fortes possíveis dentro das fracas, pontes de hidrogénio, interações electroestáticas, ou que tenham grandes zonas apolares para criar efeito hidrofóbico.

Exemplo de encaixe induzido ao nível molecular

Alteração conformacional do centro ativo (flexível) induzida pelo ligando (rígido)

Cinzento ➔ enzima

A enzima tem um OH, uma carga positiva, e uma zona apolar quando o substrato sente o OH e a carga positiva o tamanho da ligação mantém-se a não ser que a enzima seja flexível (ou seja não tem folhas beta) e que altere o tamanho da ligação para a distância ótima.

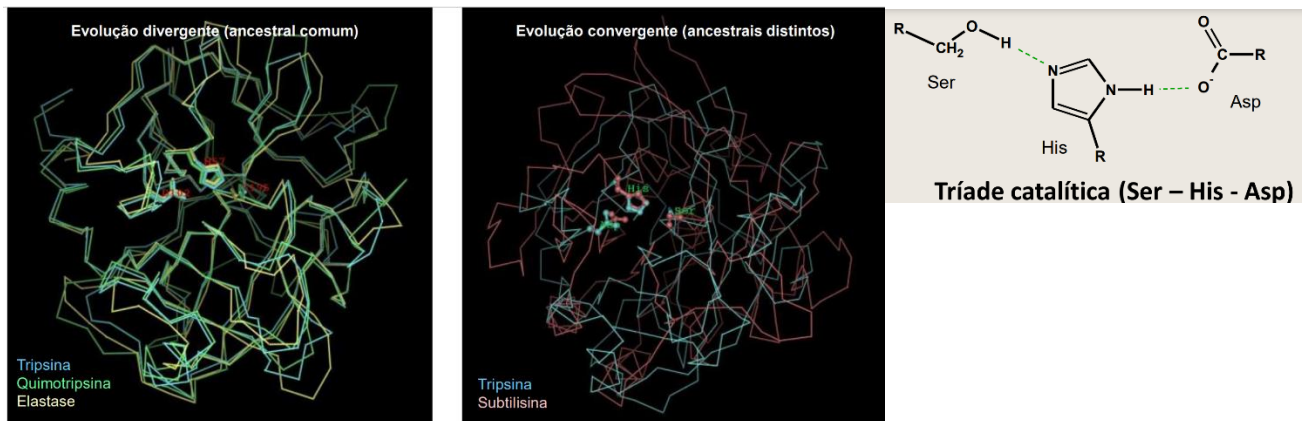
Modelos de interação ligando-enzima

Chave-fechadura ➔ a enzima não muda a conformação do centro ativo qualquer que seja o substrato e este também não se altera (comum em fármacos)

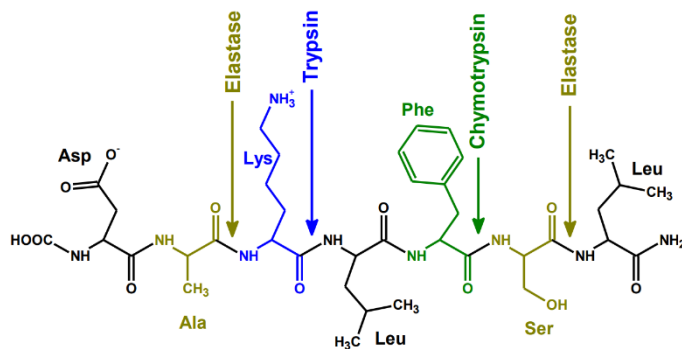
Encaixe induzido (alvo flexível) ➔ a enzima altera sua forma para que o substrato se ligue (comum em fármacos)

Encaixe induzido (ligando flexível) ➔ o substrato altera a forma para se ligar á enzima (quando temos fármacos não queremos que isto ocorra para evitar os efeitos secundários)

Encaixe induzido (alvo e ligando flexível) ➔ ambos alteram a sua forma (é raro em fármacos)

Estrutura do centro ativo das enzimas (Exemplo: Proteases de serina)

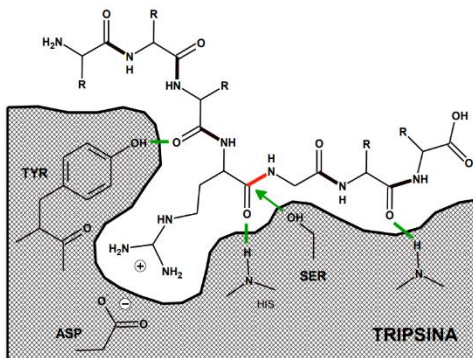
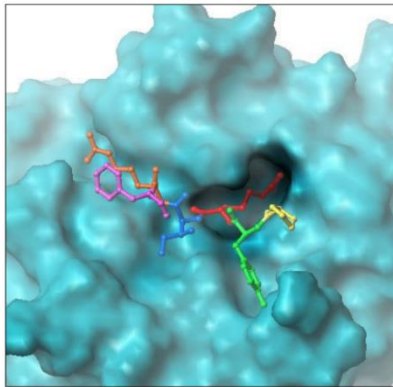
<u>Conservação estrutural do centro ativo</u>

Quando sobrepomos as 3 enzimas vemos que o centro ativo e os seus resíduos estão praticamente sobrepostos, mas também o resto da enzima é muito idêntico, isto a nível da estrutura terciária, isto é, foram codificadas a partir de genes com origem comum.

<u>Ligações hidrolisadas</u>

As proteases são enzimas que decompõem outras proteínas, catalizando a quebra de ligações peptídicas.

Cada tipo de protease é capaz de reconhecer especificamente um determinado aminoácido e quebrar a ligação peptídica que o une ao aminoácido seguinte.

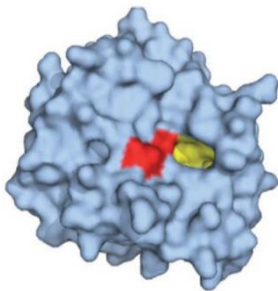
A elastase (corta a seguir a resíduos que são apolares não aromáticos), a tripsina e a quimiotripsina (corta a seguir a resíduos apolares aromáticos) são endopeptídases, cortam no meio das cadeias polipeptídicas.

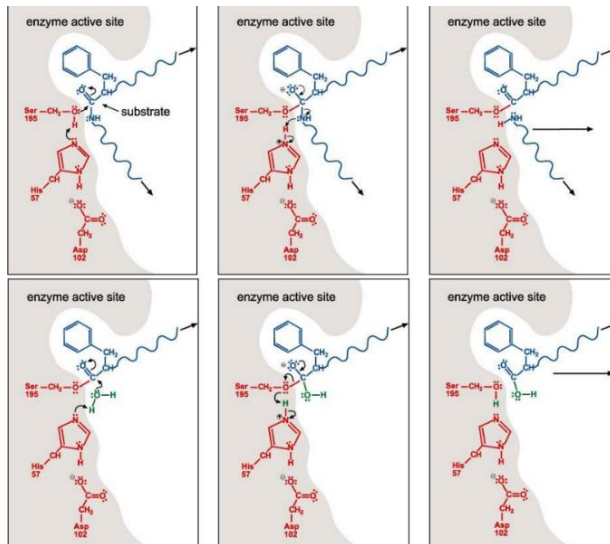
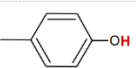
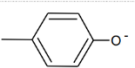
As aminopeptidases as carbopeptidases é que fazem um reconhecimento e cortam a última ligação.

Tripsina

A razão pela qual a Tripsina quebra as ligações peptídicas logo após aminoácidos positivamente carregados (ARG ou LYS), é a existência de um aspartato (carga negativa) no fundo da cavidade de reconhecimento.

Tripsina ligada a um pequeno péptido de 6 aminoácidos e mostrando a cavidade de reconhecimento da arginina (vermelho)

Na superfície da tripsina há um pocket (uma depressão) no fundo tem um aspartato (carga negativa):

- Quando um aminoácido é carregado negativamente afasta-se logo porque é repelido pelo aspartato e não forma p complexo enzima substrato
- Quando um aminoácido é muito volumoso e apolar, ele não consegue entrar no pocket e não forma o complexo
- Quando um aminoácido é alifático, ou seja, cadeia sem anel aromático e apolar, consegue entrar, mas não forma complexo
- Quando um aminoácido é carregado positivamente consegue entrar e forma complexo substrato tripsina, o complexo é estabilizado e a serina vai acatar um carbono carbonílico e promove a quebra da ligação a vermelho.

Quimotripsina

A Quimotripsina quebra as ligações peptídicas logo após aminoácidos aromáticos (Phe, Trp, Tyr). Esta protease apresenta um pocket (amarelo) hidrófobo apolar no seu centro ativo.

A serina (vermelho)

No pocket como é mais largo e apolar encaixa resíduos de aminoácidos aromáticos.

Uma vez estabilizado o substrato á superfície, a serina faz um ataque nucleófilo ao carbono, ficando com excesso de eletrões á sua volta partindo a ligação peptídica.

Um dos fragmentos desaparece e o outro mantém-se ligado. De seguida vem um H2O e ataca novamente o mesmo carbono destabilizando a ligação da serina com o carbono regenerando a enzima e então um novo fragmento da proteína é libertado.

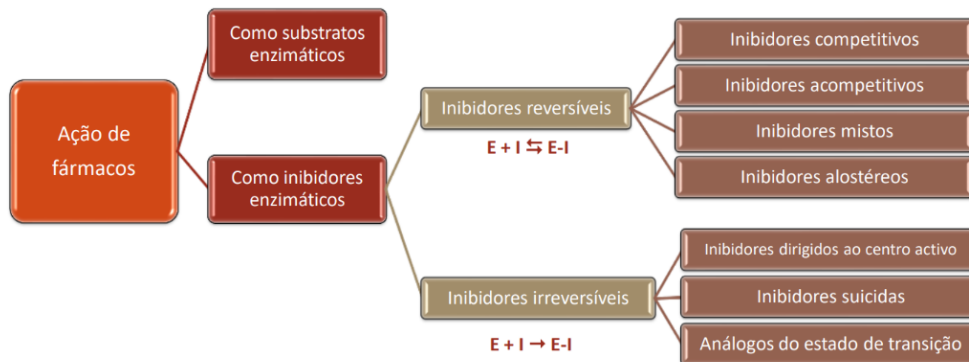
Aminoácidos frequentemente presentes em centros ativos de enzimas

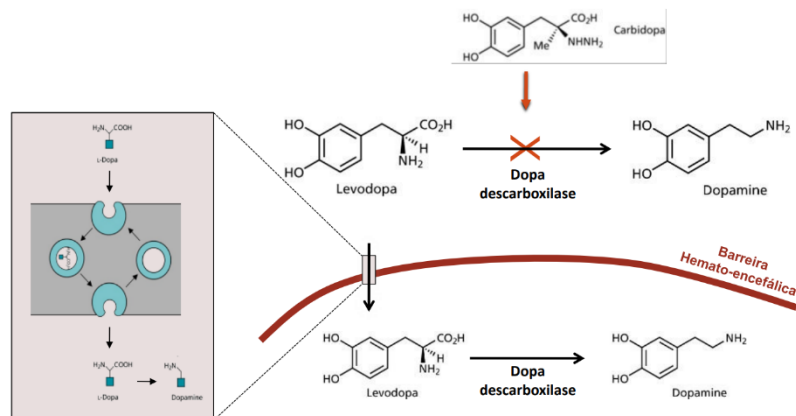
Aminoácido	Grupo funcional	Interacção com o substrato
Glutamato Aspartato	$-COO^-$	electrostático
Lisina Arginina	$-NH_3^+$	electrostático
Cisteina	-SH	covalente: lig. di-sulfureto (-S-S-) covalente: lig. metais dipolo-dipolo: ponte Hidrogénio
Histidina	H N N	dipolo-dipolo: ponte Hidrogénio electrostático covalente: lig. metais
Serina	-OH	dipolo-dipolo: ponte Hidrogénio
Tirosina	-OH	dipolo-dipolo: ponte Hidrogénio

Aminoácidos frequentemente envolvidos na catálise enzimática como aceitadores/doadores de protões

Aminoácido	Forma ácida (dador de H)	Forma básica (aceitador de H)
Glutamato Aspartato	-COOH	$-COO^-$
Lisina Arginina	$-NH_3^+$	$-NH_2$
Cisteína	-SH	$-S^-$
Histidina	H N+ N	H N N
Serina	-OH	$-O^-$
Tirosina	OH	O^-

Estabelecem pontes de hidrogénio quando não estão carregadas e interações electroestáticas quando estão.

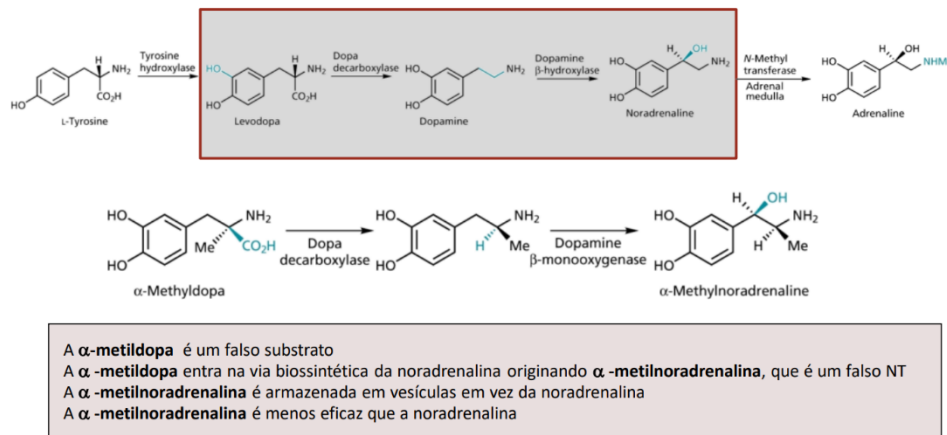
Ação de fármacos sobre enzimas

Ação de fármacos como substratos enzimáticos Exemplo: levodopa

A doença de Parkinson está associada a uma diminuição da atividade dopaminérgica no cérebro, ou seja, precisamos de ter dopamina e não temos.

Usamos como fármaco a levodopa que vai originar dopamina. A dopamina não consegue ultrapassar a barreira hematoencefálica, mas a levodopa consegue. Temos de administrar a levodopa com um inibidor da dopa descarboxílase (carbidopa) e aí conseguimos que a levadopa passe para o SNC, onde irá ser descarboxilada e formar dopamina.

A levodopa ou L-dopa pode ser administrada oralmente, mas é descarboxilada perifericamente.

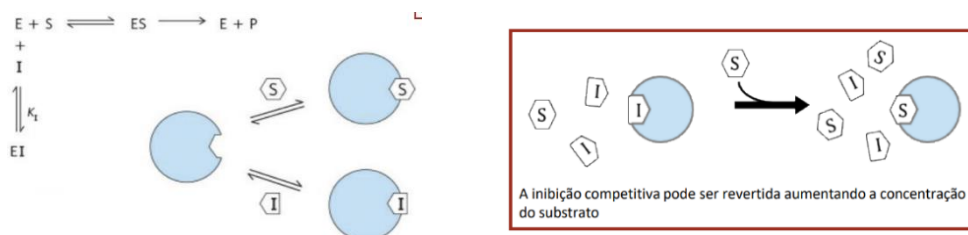
A carbidopa inibe a descarboxilação hepática da levodopa, podendo ser co-administrada com o fármaco.

As enzimas da biossíntese de noradrenalina e adrenalina são potenciais alvos terapêuticos no controlo da atividade adrenérgica.

A **α-metildopa** é um falso substrato
A **α -metildopa** entra na via biossintética da noradrenalina originando **α -metilnoradrenalina**, que é um falso NT
A **α -metilnoradrenalina** é armazenada em vesículas em vez da noradrenalina
A **α -metilnoradrenalina** é menos eficaz que a noradrenalina

Ação de fármacos como inibidores enzimáticos

<u>Inibidores reversíveis</u> (interagem fracamente com a enzima): inibidores competitivos

Inibidores competitivos são compostos que apresentam semelhanças com o substrato. A inibição baseia-se na competição pelo centro ativo.

A inibição competitiva pode ser revertida aumentando a concentração do substrato

Isto significa que as interações estabelecidas pelo substrato e a enzima são iguais às do fármaco e a enzima.

Se aumentar a quantidade de substrato presente vamos deixar de observar o efeito da inibição, ou seja, conseguimos reverter o efeito da inibição pelo aumento do substrato.

Podemos aumentar a força da interação do inibidor com a enzima para diminuirmos a sua dose sendo que este continua a ser competitivo pois não foi alterado quimicamente.

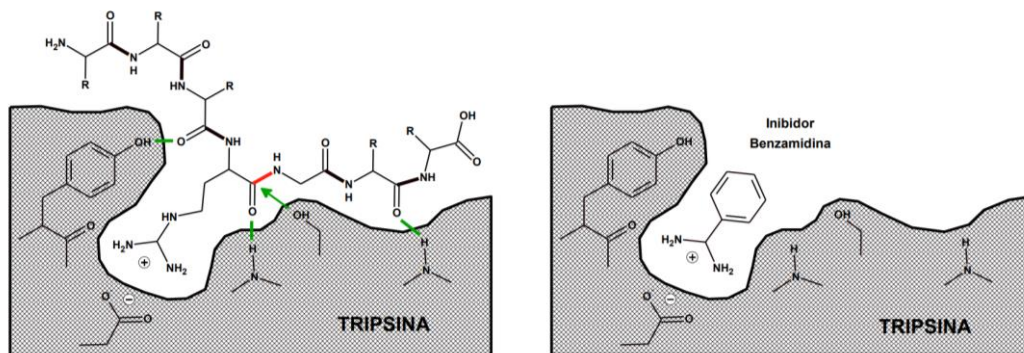
Exemplo:

A enzima tem um grupo OH no centro ativo, o substrato tem um grupo NH2 e só se liga à enzima pelo grupo OH. Temos um inibidor I1- grupo H2N, I2- grupo OH, I3- grupo SH, todos estes grupos estabelecem pontes de hidrogénio com a enzima, inibem a enzima. Qual deles é mais eficaz a inibir a enzima?

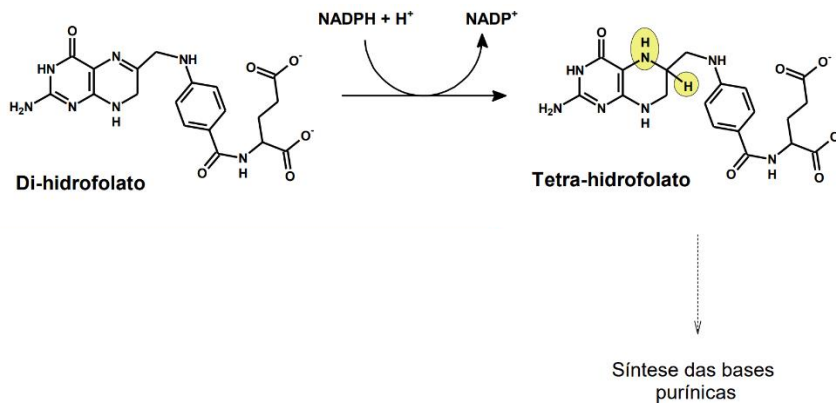
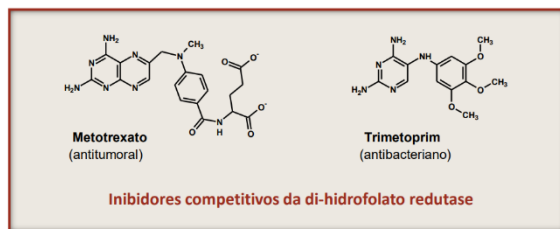
R: O I2 é o mais eficaz pois o oxigénio é o mais eletronegativo e estabelece pontes de hidrogénio mais fortes. I2 > I1 > I3

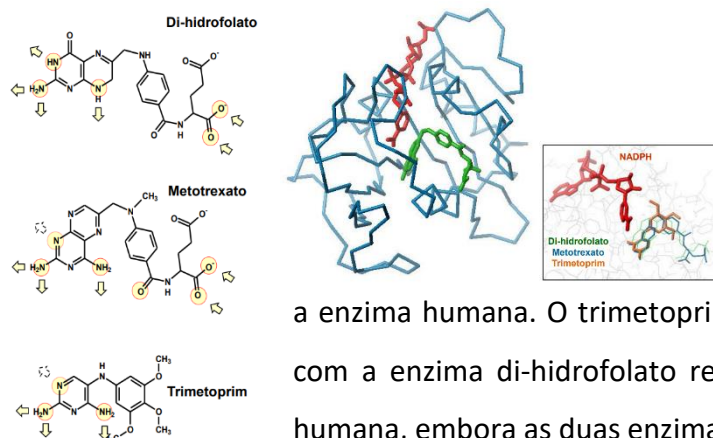
Qual dos três inibidores utilizamos uma concentração mais baixa para ter inibição?

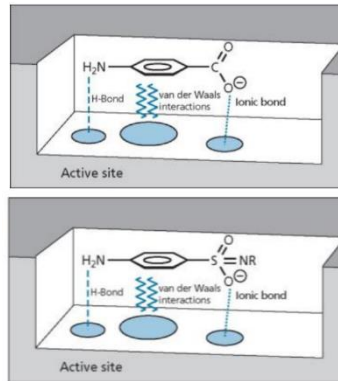
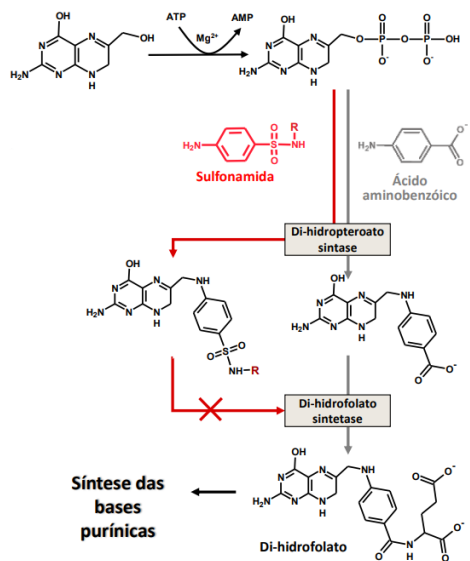
R: I2 > I1 > I3, porque quanto mais forte a ligação do inibidor com a enzima mais baixa é a dose e por sua vez mais quantidade é precisa de substrato para reverter a sua ação.

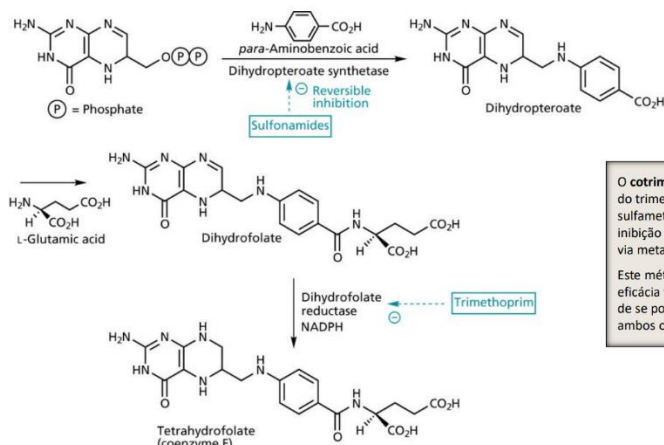
Exemplo de inibidor competitivo (reversível) - Ação da benzamidina sobre a tripsina

A tripsina tem no fundo do pocket uma carga negativa, de tal maneira que as cadeias polipeptídicas nos locais que tenham cadeias laterais com cargas positivas vão estabilizar neste pocket, formando um complexo substrato-enzima á superfície da tripsina.

LOGO qualquer composto que tenha uma forma adequada a caber no pocket da tripsina e tenha uma carga positiva vai ser um bom inibidor reversível competitivo da tripsina, pois faz interações electroestáticas.

Exemplo de inibidor competitivo (reversível) - Ação sobre a di-hidrofolato redutase

A Di-hidrofolato redutase catalisa a formação do tetra-hidrofolato, precursor das bases purínicas (A, G) e essencial para a replicação do DNA e divisão celular. A inibição desta enzima constitui uma das estratégias usadas, quer no tratamento de tumores, quer como agentes antibacterianos. Esta estratégia baseia-se no facto da di-hidrofolato redutase existir em diferentes formas (isozimas).

Será que esta enzima pode ser alvo da ação farmacológica em bactérias, será que podemos desenvolver um fármaco que atue nesta enzima nas bactérias, ou por termos esta enzima será que não a podemos usar como alvo dos fármacos?

PODEMOS. Os humanos são mais complexos, logo há diferenças suficientes na enzima.

Observamos para as várias enzimas e tentar perceber de que maneira é que vamos ter compostos que interagem com a enzima bacteriana e não com a enzima humana. O trimetoprim é um antibiótico que interage com a enzima di-hidrofolato redutase bacteriana e não com a humana, embora as duas enzimas tenham o mesmo substrato.

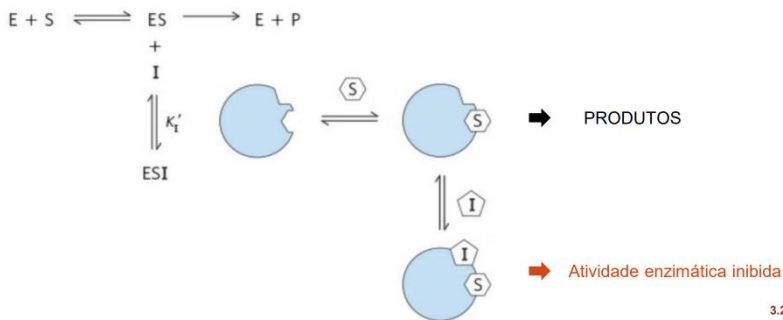
Exemplo de inibidor competitivo (reversível) - Ação bacteriostática das sulfonamidas

As sulfonamidas são inibidores competitivos do enzima bacteriano di-hidropteroato sintase.

Ao contrário dos humanos que retiram o folato (precursor) da dieta alimentar, as bactérias têm de o sintetizar. Uma estratégia usada no design de fármacos é usar como alvo enzimas que participam em troços de vias metabólicas não existentes nos humanos.

O **cotrimoxazole** é uma conjugação do trimetoprim com a sulfonamida sulfametoxazole que per-mite a inibição de dois enzimas da mesma via metabólica bacteriana.

Este método associa o aumento da eficácia terapêutica com a vantagem de se poderem usar doses baixas de ambos os fármacos

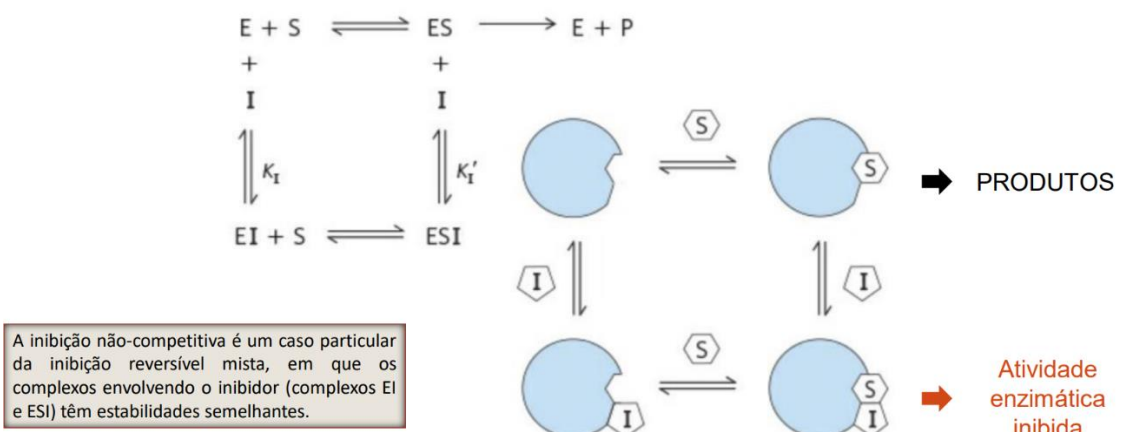
As sulfonamidas têm uma forma muito parecido com o substrato do di-hidropteroato sintase, logo as enzimas bacterianas vão aceitar a sulfonamida como substrato só que a enzima é tão pouco especifica que é mesmo “enganado” que origina um produto. Este produto é que não irá ser reconhecido pela di-hidrofolato sintetase assim a via metabólica fica interrompida fazendo com que as bactérias não consigam sintetizar DNA e morrem.

Muitas vezes para diminuir a dose do fármaco usa-se uma metodologia que utiliza o efeito sinérgico de dois compostos, por exemplo, na mesma via metabólica se inibirmos a via metabólica num ponto e noutro ponto, conseguimos diminuir muito a dose dos dois inibidores porque o efeito da inibição é muito mais acentuado, ou seja, a inibição de uma via metabólica em dois pontos distintos é sempre mais eficaz e permite-nos diminuir a dose o que pode resultar na diminuição dos efeitos secundários.

Ação de fármacos como inibidores enzimáticos Inibidores reversíveis: inibidores acompetitivos

Ao contrário dos inibidores competitivos, os inibidores acompetitivos e os inibidores mistos ligam-se ao enzima em locais distintos do centro de ligação do substrato, mas podem também interagir no centro ativo. Os inibidores acompetitivos ligam-se ao complexo enzimasubstrato, enquanto os inibidores mistos podem ligar-se tanto ao complexo enzima-substrato como ao enzima livre.

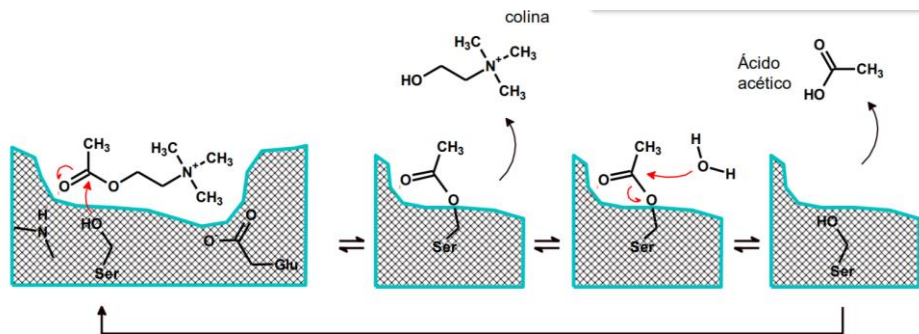
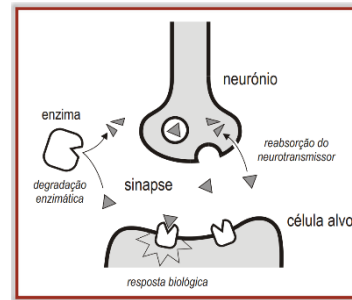
Nos inibidores acompetitivos o substrato liga-se á enzima produzindo produtos e só depois é que o inibidor se consegue ligar á enzima e só aí é que existe inibição enzimática.

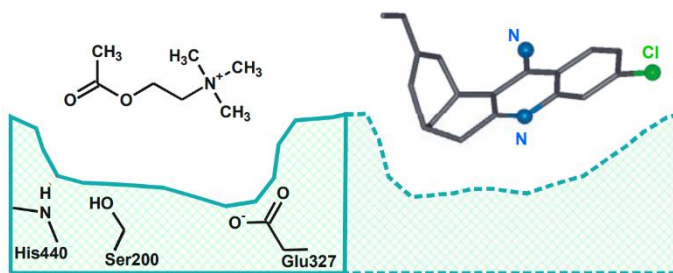
Como distinguir um inibidor acompetitivo de um inibidor competitivo → os resultados da experiência seriam iguais. Para os distinguir podíamos aumentar a quantidade de substrato, se já não houvesse inibição o inibidor seria competitivo.

Inibidores reversíveis: inibidores mistos

Um inibidor misto é aquele que ou interage com a enzima fora do centro ativo e não interage quando o substrato está ligado ou interage apenas quando o substrato está ligado.

Exemplo de inibição reversível - Ação sobre a acetilcolinesterase

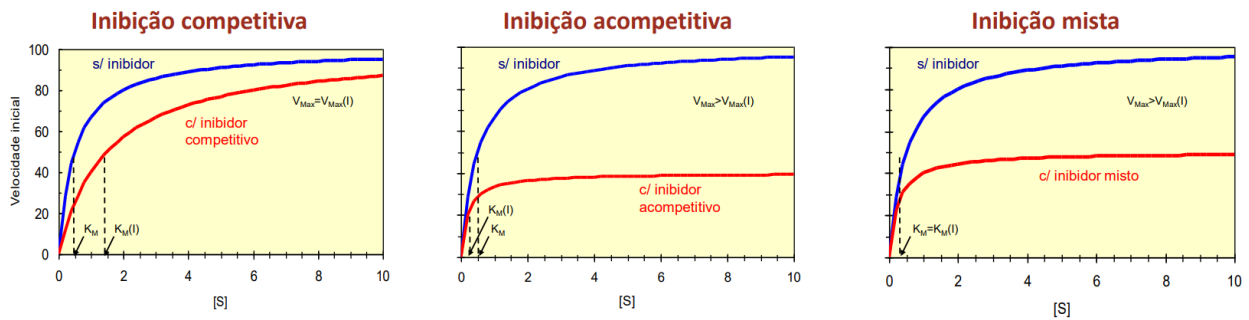
A acetilcolinesterase catalisa a reconversão da acetilcolina a ácido acético e colina, nas junções sinápticas.

A reação inicia-se com um ataque nucleófilo do grupo hidroxilo de uma serina ao carbonilo da acetilcolina.

Quando é a acetilcolinesterase é inibida vai haver acetilcolina a fenda sináptica.

A acetilcolinesterase interage numa zona do centro ativo, onde há uma serina com um grupo OH que vai atacar o carbono da acetilcolinesterase e que ao atacar quebra-se a ligação mais fraca que faz com que a colina saia. A enzima está ligada agora ao acetato que com o ataque de H20 fazendo com que a enzima se regenere e o resto do produto se liberte (ácido acético).

Huprina X é um inibidor reversível misto da acetilcolinesterase. Este composto foi sintetizado com o intuito de combinar propriedades úteis de outros inibidores anticolinérgicos já conhecidos, apresentando uma afinidade para a acetilcolinesterase muito superior a qualquer um deles.

A Huprina X liga-se nos mesmos pontos no centro ativo, mas também fora deste, fazendo mais ligações com a enzima que o substrato.

Identificação do tipo de inibição reversível

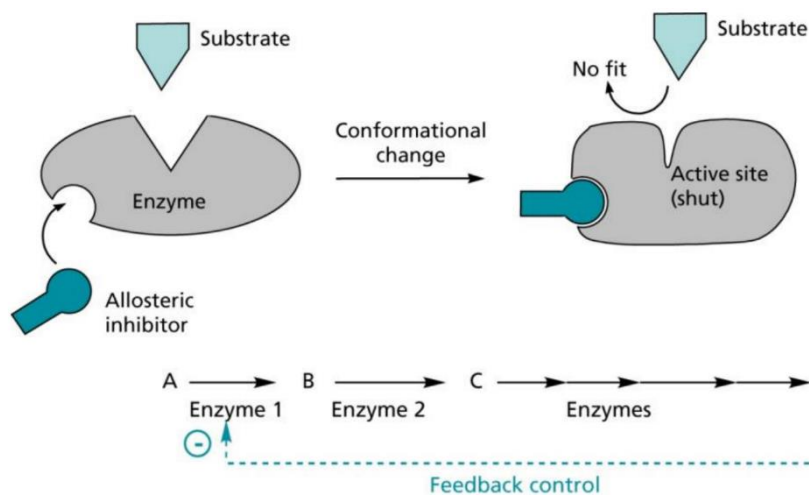
Inibição competitiva

- V_{max} não é afetado; o aumento de [S] restabelece a velocidade máxima do enzima ativo.
- K_m aumenta; a afinidade aparente do enzima pelo substrato diminui.

Inibição acompetitiva

- V_{max} diminui (o efeito é equivalente a existir uma menor quantidade de enzima ativo).
- K_m diminui pelo facto da ligação do inibidor implicar a ligação do substrato.
- A razão K_M/V_{Max} mantém-se constante

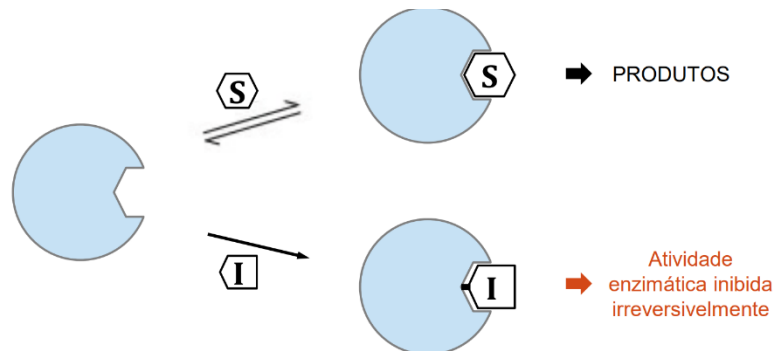
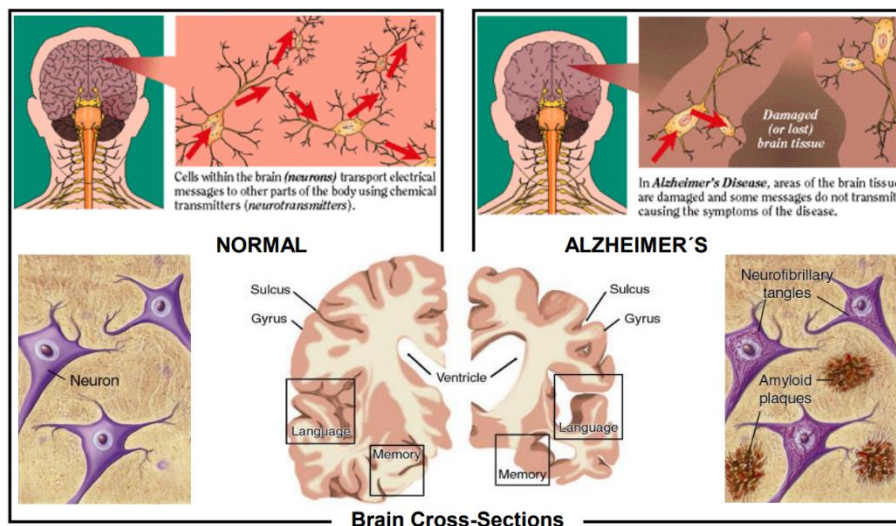
Inibição mista

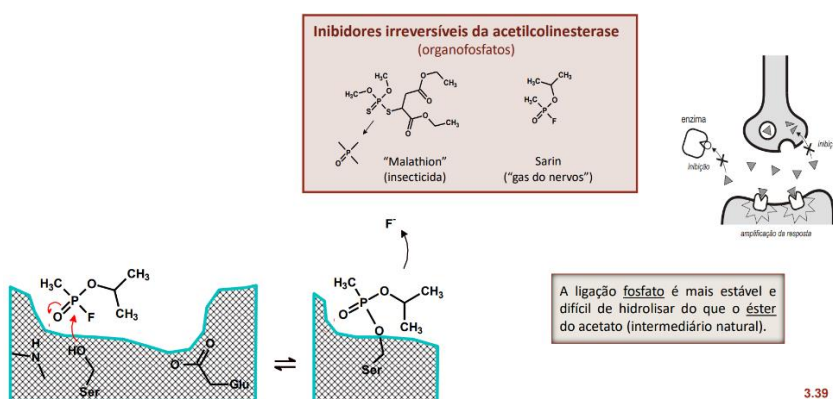
- V_{max} diminui (o efeito é equivalente a existir uma menor concentração de enzima ativo).
- No caso particular de inibição não competitiva, K_m não é afeoctado; a afinidade aparente da enzima pelo substrato é a mesma na presença ou ausência do inibidor.

Inibidores reversíveis alostéreos

Os inibidores interagem fora do centro ativo alterando a sua forma fazendo com que o substrato não se consiga ligar.

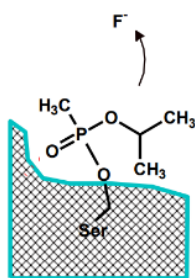
Queremos inibir a enzima 1 para inibir o mais atrás possível na cadeia metabólica e inibir outra enzima para diminuirmos a dose e ser 100% eficaz.

É indiferente escolher a enzima 1 ou a enzima 2? Vamos escolher uma enzima que endogenamente seja um ponto de regulação da via metabólica.

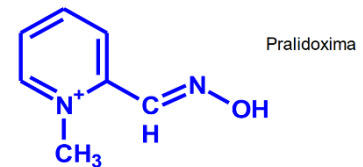
<u>Inibidores irreversíveis</u> - (estabelecem ligações covalente com a enzima) ➔ temos um complexo enzima-inibidor irreversível, um complexo que tem de ser completamente eliminado para conseguirmos expulsar o fármaco no nosso organismo

Se conseguirmos aumentar a quantidade de acetilcolina nas fendas sináticas, vamos conseguir melhorar a vida do doente.

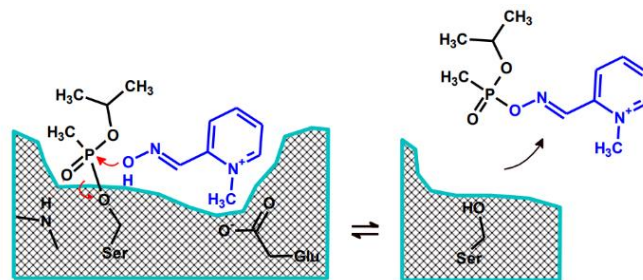
Exemplo de inibição irreversível - Ação sobre a acetilcolinesterase

Na presença de acetilcolinesterase a serina e o grupo OH atacam o fósforo e ao atacá-lo estabelece-se uma ligação covalente. Esta ligação vai originar a quebra de outra ligação onde sai parte da molécula, e a ligação á enzima é desfavorecida pela entrada de H2O e o fósforo vai formar ligações irreversíveis.

EXEMPLO: Podemos usar um inibidor irreversível da acetilcolinesterase como estratégia terapêutica de doentes de Alzheimer para amplificar o sinal da acetilcolina?

R: Se utilizássemos íamos matar os doentes, se for reversível não vamos estar a rever a doença, mas sim uma condição da doença que está relacionada com as capacidades cognitivas.

Nos inibidores irreversíveis muitas vezes tenta-se desenvolver os antídotos, estes têm a função de reverter, neste caso a ligação que se forma entre o veneno e a enzima, a ligação irreversível. Ou seja, arranjarmos um composto em que o veneno tenha mais tendência a ligar-se a ele do que á enzima.

Regeneração da atividade enzimática

Através do conhecimento do modo de ação dos inibidores organofosfatos, foi possível desenvolver um antídoto eficaz:

As oximas são potentes nucleófilos, capazes de hidrolisar a ligação fosfato destes inibidores.

A pralidoxima foi desenhada de forma a usar o mesmo sítio de interacção iónica que a acetilcolina.

A Pralidoxima vai hidrolisar a ligação fosforo com o OH é mais forte do que a ligação que estava a ser estabelecida entre o organofosfato e a enzima. Como é mais forte passa a ligar-se e sai a molécula toda e então a enzima passa a regenerado.